BAND XIV NEUE FOLGE LIEFERUNG 1

BAND VIII

MIKROCHEMIE

Internationales Archiv für deren Gesamtgebiet

Redigiert von

W. BÖTTGER, Leipzig / **F. EMICH**, Graz / **H. EPPINGER**, Wien / **F. FEIGL**, Wien
H. LIEB, Graz / **H. MOLISCH**, Wien / **F. PREGL** †, Graz / **R. WASICKY**, Wien.

Unter Mitwirkung von:

E. Abderhalden - Halle, **H. V. Arny** - New York, **Y. Asahina** - Tokio, **G. Barger** - Edinburgh, **A. Benedetti-Pichler** - New York, **R. Berg** - Königsberg, **G. Bertrand** - Paris, **W. Biltz** - Hannover, **J. C. Bock**-Milwaukee, **E. M. Chamot**-Ithaca, **O. Dafert**-Wien, **G. Denigès**-Bordeaux, **J. Donau**-Graz, **J. Dubský** - Brünn, **R. Eder** - Zürich, **S. Edlbacher** - Basel, **R. Ehrenberg** - Göttingen, **H. v. Euler**-Stockholm, **F. K. Faber**-Wien, **B. Flaschenträger**-Zürich, **E. Freund**-Wien, **A. Friedrich** - Wien, **F. Fuhrmann** - Graz, **O. Fürth** - Wien, **W. Geilmann** - Hannover, **W. C. de Graaf** - Utrecht, **H. Gravestein** - Delft, **H. G. Greenish** - London, **R. Grengg** - Wien, **F. L. Hahn** - Frankfurt a. M., **M. Haitinger** - Wien, **F. Haurowitz**-Prag, **K. Heller**- Prag, **J. Heyrovský**-Prag, **L. van Itallie** - Leiden, **H. Jansch** - Wien, **S. Kakiuchi**-Tokio, **J. Kendall**-Edinburgh, **J. Kisser**-Wien, **G. Klein**-Heidelberg, **H. Kleinmann** - Berlin, **P. D. C. Kley** - Delft, **F. Knoop** - Tübingen, **L. Kofler** - Innsbruck, **J. M. Kolthoff**-Minneapolis, **G. Lunde**-Stavanger **K. L. Maljaroff**-Moskau, **A. Martini** - Rosario, **A. Mayrhofer** - Wien, **L. B. Mendel** - New Haven, **A. Miolati** - Padova, **J. M. Nelson** - New York, **J. B. Niederl** - New York, **W. Nonnenbruch** - Prag, **F. Paneth** - Königsberg, **J. K. Parnas** - Lemberg, **V. Patzelt** - Wien, **W. Pauli** - Wien, **E. Philippi** - Innsbruck, **L. Pincussen** - Berlin, **D. Prianischnikow**-Moskau, **H. Přibram**-Prag, **K. Rast**-Leverkusen, **P. Rona**-Berlin, **L. Rosenthaler**-Bern, **O. Ruff**-Breslau, **H. Schmalfuß**-Hamburg, **E. Schmitz**-Breslau, **N. Schoorl**-Utrecht, **F. Schulz**-Jena, **C. Schwarz**-Wien, **Y. Shibata**-Tokio, **H. Siedentopf**-Jena, **E. v. Skramlik**-Jena, **D. D. van Slyke**-New York, **A. Soltys**-Graz, **E. Starkenstein**-Prag, **Z. Stary**-Prag, **W. Stepp**-Breslau, **A. Stock**-Karlsruhe, **J. Stoklasa**-Prag, **K. Thomas**-Leipzig, **J. Tillmans**-Frankfurt a. M., **A. Tschermak-Seysenegg**-Prag, **A. Tschirch** - Bern, **C. Urbach** - Prag, **A. Viehoever** - Philadelphia, **C. Weygand** - Leipzig, **H. Winterstein**-Breslau, **O. Wintersteiner**-New York, **F. Zaribnicky**-Wien, **R. Zeynek**-Prag.

Inhaltsverzeichnis

Originalabhandlungen: pag.

P. L. Kirk: Quantitative Drop Analysis (I). General Apparatus and Technique (mit 7 Textfiguren) 1

R. P. Miller and P. L. Kirk: Quantitative Drop Analysis (II). Determination of Calcium (mit 3 Tabellen) 15

W. Münster: Beitrag zur mikroanalytischen Jodbestimmung und über einen bewährten Mikro-Trockenapparat (mit 2 Textfiguren und 1 Tabelle) 23

H. Brantner und F. Hecht: Eine neue Apparatur zur Mikroelektrolyse (mit 1 Textfigur) 27

H. Brantner und F. Hecht: Beitrag zur mikroelektrolytischen Bleibestimmung (mit 5 Tabellen) 30

A. Friedrich und S. Rapoport: Über die Verwendung der Rhodizonsäure als Indikator zur maßanalytischen Bestimmung des Bariums 41

F. Rappaport: Methodisches zur Mikrobestimmung des Reststickstoffes und des Harnstoffes im Blut (mit 1 Textfigur und 18 Tabellen) 49

F. Rappaport und H. Engelberg: Beiträge zur Mikro-Indikanbestimmung im Blut (mit 2 Textfiguren und 2 Tabellen) 75

F. Hecht: Bemerkungen zur quantitativen Mikro-Mineralanalyse 81

A. A Benedetti-Pichler: Bemerkungen zur quantitativen Mikro-Mineralanalyse 84

Sammelreferat:

A. Wasitzky: Mikromethoden zur Eiweißbestimmung in der Medizin und Biologie 85

Bücherschau 113

Varia 117

Mit 13 Abbildungen im Text und 29 Tabellen.

Mikrochemie erscheint in zwangloser Folge — in Lieferungen von verschiedenem Umfange.

EMIL HAIM & CO.
WIEN UND LEIPZIG
1933

Wir empfehlen beiliegenden Prospekt besonderer Beachtung

PAUL HAACK

Wien, IX./3, Garelligasse Nr. 4

Gegründet 1893

Telephon Nr. A-22-0-25 Postspark.-Konto 48.473

Alle Apparate für die quantitative organische Mikroanalyse

nach Prof. Pregl

Alle mikrochemischen Apparate und Behelfe

nach Prof. Emich

Behelfe zur Tüpfelanalyse

nach Doz. Feigl

Spezial-Reagenzien für analytische Chemie

Chemische und bakteriologische Apparate

Eigene Werkstätte für Glasbläserei, Ätzerei, Schleiferei und Laboratoriums-Utensilien

Unsere Vertretung in U. S. A.:

MICROCHEMICAL SERVICE

30 Van Zandt Ave., Douglaston, New York

BAND XIV NEUE FOLGE 1933/34

BAND VIII

MIKROCHEMIE

Internationales Archiv für deren Gesamtgebiet

Redigiert von

W. BÖTTGER, Leipzig / **F. EMICH**, Graz / **H. EPPINGER**, Wien / **F. FEIGL**, Wien
H. LIEB, Graz / **H. MOLISCH**, Wien / **F. PREGL** †, Graz / **R. WASICKY**, Wien.

Unter Mitwirkung von:

E. Abderhalden - Halle, **H. V. Arny** - New York, **Y. Asahina** - Tokio, **G. Barger** - Edinburgh, **A. Benedetti-Pichler** - New York, **R. Berg** - Königsberg, **G. Bertrand** - Paris, **W. Biltz** - Hannover, **J. C. Bock**-Milwaukee, **E. M. Chamot**-Ithaca, **O. Dafert**-Wien, **G. Denigès**-Bordeaux, **J. Donau**-Graz, **J. Dubský** - Brünn, **R. Eder** - Zürich, **S. Edlbacher** - Basel, **R. Ehrenberg** - Göttingen, **H. v. Euler**-Stockholm, **F. K. Faber**-Wien, **B. Flaschenträger**-Zürich, **E. Freund**-Wien, **A. Friedrich**-Wien, **F. Fuhrmann** - Graz, **O. Fürth** - Wien, **W. Geilmann** - Hannover, **W. C. de Graaf** - Utrecht, **H. Gravestein** - Delft, **H. G. Greenish** - London, **R. Grengg** - Wien, **F. L. Hahn** - Frankfurt a. M., **M. Haitinger** - Wien, **F. Haurowitz**-Prag, **K. Heller**- Prag, **J. Heyrovský**-Prag, **L. van Itallie** - Leiden, **H. Jansch** - Wien, **S. Kakiuchi**-Tokio, **J. Kendall**-Edinburgh, **J. Kisser**-Wien, **G. Klein**-Heidelberg, **H. Kleinmann** - Berlin, **P. D. C. Kley** - Delft, **F. Knoop** - Tübingen, **L. Kofler** - Innsbruck, **J. M. Kolthoff**-Minneapolis, **G. Lunde**-Stavanger **K. L. Maljaroff**-Moskau, **A. Martini** - Rosario, **A. Mayrhofer** - Wien, **L. B. Mendel** - New Haven, **A. Miolati** - Padova, **J. M. Nelson** - New York, **J. B. Niederl** - New York, **W. Nonnenbruch** - Prag, **F. Paneth** - Königsberg, **J. K. Parnas** - Lemberg, **V. Patzelt** - Wien, **W. Pauli** - Wien, **E. Philippi** - Innsbruck, **L. Pincussen** - Berlin, **D. Prianischnikow**-Moskau, **H. Přibram**-Prag, **K. Rast**-Leverkusen, **P. Rona**-Berlin, **L. Rosenthaler**-Bern, **O. Ruff**-Breslau, **H. Schmalfuß**-Hamburg, **E. Schmitz**-Breslau, **N. Schoorl**-Utrecht, **F. Schulz**-Jena, **C. Schwarz**-Wien, **Y. Shibata**-Tokio, **H. Siedentopf**-Jena, **E. v. Skramlik**-Jena, **D. D. van Slyke**-New York, **A. Soltys**-Graz, **E. Starkenstein**-Prag, **Z. Stary**-Prag, **W. Stepp**-Breslau, **A. Stock**-Karlsruhe, **J. Stoklasa** - Prag, **K. Thomas**-Leipzig, **J. Tillmans** - Frankfurt a. M., **A. Tschermak-Seysenegg** - Prag, **A. Tschirch** - Bern, **C. Urbach** - Prag, **A. Viehoever** - Philadelphia, **C. Weygand** - Leipzig, **H. Winterstein**-Breslau, **O. Wintersteiner**-New York, **F. Zaribnicky**-Wien, **R. Zeynek**-Prag.

Mit 51 Abbildungen im Text, 2 Tafeln
und 63 Tabellen

EMIL HAIM & CO.
WIEN UND LEIPZIG
1934

INHALTSVERZEICHNIS.

A. ORIGINALABHANDLUNGEN.

Seite

ALBER, H., Neues Zubehör zu einem „Mikroskop für mikrochemische Arbeiten“ (Kapillarhalter, mikrochemischer Manipulator), nebst einigen Bemerkungen zur qualitativen Mikroelektrolyse 219

BARIL, R., siehe URBACH, C., und R. BARIL.

BENEDETTI-PICHLER, A. A., Bemerkungen zur quantitativen Mikro-Mineralanalyse 84, 285, 288

BORGEAUD, P., siehe WENGER, P., CH. CIMERMAN et P. BORGEAUD.

BRANTNER, H., und F. HECHT, Eine neue Apparatur zur Mikroelektrolyse 27

BRANTNER, H., und F. HECHT, Beitrag zur mikroelektrolytischen Bleibestimmung 30

CIMERMAN, CH., siehe WENGER, P., CH. CIMERMAN et P. BORGEAUD.

CIMERMAN, CH., siehe WENGER, P., CH. CIMERMAN et A. MAULBETSCH.

ENGELBERG, H., siehe RAPPAPORT, F., und H. ENGELBERG.

FRIEDRICH, A., und S. RAPOPORT, Über die Verwendung der Rhodizonsäure als Indikator zur maßanalytischen Bestimmung des Bariums . . 41

GOLDBERG, J. L., The Determination of Iodine in Organic Compounds . . 161

GORBACH, G., und A. SABLATNÖG, Eine Methode zur gravimetrischen Mikrobestimmung des Unverseifbaren 256

HAHN, F. L., Die Bestimmung kleinster Kupfermengen durch Messung ihrer katalytischen Wirkung 280

HECHT, F., Bemerkungen zur quantitativen Mikro-Mineralanalyse 81, 283, 286

HECHT, F., siehe BRANTNER, H., und F. HECHT.

HERZFELD, E., Über eine einfache tyndallmetrische Trypsinbestimmungsmethode 245

HOHENBERG, E., siehe RAPPAPORT, F., und E. HOHENBERG.

JENAER GLASWERK SCHOTT & GEN., Bemerkung zur Arbeit von P. L. Kirk 362

KAHOVEC, L., Über eine neue Vorlageeprouvette für die Mikromethoxylbestimmung nach F. Vieböck und C. Brecher 341

KIRK, P. L., Quantitative Drop Analysis (I). General Apparatus and Technique 1

KIRK, P. L., siehe MILLER, R. P., and P. L. KIRK.

KOMAROWSKY, A. S., und N. S. POLUEKTOFF, Über eine neue Tüpfelreaktion des Berylliums 315

Seite

KOMAROWSKY, A. S., und N. S. POLUEKTOFF, Eine empfindliche Reaktion auf Borsäure 317

KORENMAN, I. M., Nachweis und Mikrobestimmung von Silber, Quecksilber und Jodiden 181

LIEB, H., Notiz über die Heizgranate nach Dr. Schöbel für die Kohlenstoff-Wasserstoff-Bestimmung nach Pregl 263

MAULBETSCH, A., siehe P. WENGER, CH. CIMERMAN et A. MAULBETSCH.

MILLER, R. P., and P. L. KIRK, Quantitative Drop Aanalysis (I). Determination of Calcium 15

MÜNSTER, W., Beitrag zur mikroanalytischen Jodbestimmung und über einen bewährten Mikro-Trockenapparat 23

POLUEKTOFF, N. S., Eine neue Tüpfelreaktion auf Kalium 265

POLUEKTOFF, N. S., siehe KOMAROWSKY, A. S., und N. S. POLUEKTOFF.

RAPOPORT, S., siehe FRIEDRICH, A., und S. RAPOPORT

RAPPAPORT, F., Methodisches zur Mikrobestimmung des Reststicktoffes und des Harnstoffes im Blut 49

RAPPAPORT, F., und H. ENGELBERG, Beitrag zur Mikro-Indikanbestimmung im Blut 75

RAPPAPORT, F., und E. HOHENBERG, Mikrobestimmung des Eisens (= RAPPAPORT, F., Beiträge zur Jodometrie. 1. Mitteilung) 119

ROSENTHALER, L., Berichtigung 267

ROSENTHALER, L., Kleine mikrochemische Beiträge. X. 268

ROSENTHALER, L., Kleine mikrochemische Beiträge. XI. 363

SABLATNÖG, A., siehe GORBACH, G., und A. SABLATNÖG.

SASTRI, B. N., and M. SREENIVASAYA, Detection of Enzymes by „Spot" Tests 159

SCHWARZ, K., Über einen Versuch, ein neues Prinzip in der organischen Mikro-Elementaranalyse zu verwenden 271

SREENIVASAYA, M., siehe B. N. SASTRI and M. SREENIVASAYA.

STRAUB, J., Über die mikrojodometrische Bestimmung des Eisens. (Eisengehalt von Schilddrüsen) 251

TAUBER, H., Eine neue Mikromethode zum Nachweis von Monosen in der Anwesenheit von reduzierenden Biosen 167

TAUBER, H., Die Anwendung der Benedict'schen Lösung zum Mikronachweis von Zucker im Urin und in anderen Lösungen 169

URBACH, C., Die stufenphotometrische Mikroanalyse des Trink- und Nutzwassers. VIII. und IX. Mitteilung 189

URBACH, C., Die stufenphotometrische Mikroanalyse des Trink- und Nutzwassers. X. Mitteilung 321

URBACH, C., Die stufenphotometrische Mikroanalyse des Trink- und Nutzwassers. XI. Mitteilung 331

URBACH, C., und R. BARIL, Stufenphotometrischer Beitrag zur quantitativen Bestimmung des Magnesiums mittels Titangelb nach Kolthoff 343

WENGER, P., CH. CIMERMAN et P. BORGEAUD, Contribution a l'étude du micro-dosage du calcium dans le serum sanguin 141

Seite

WENGER, P., CH. CIMERMAN et A. MAULBETSCH, Sur une micro-méthode de dosage de l'acide urique dans l'urine 129

WENGER, P., CH. CIMERMAN et A. MAULBETSCH, Contribution a l'étude du micro-dosage de l'urée dans le sang 132

WINCKELMANN, J., Über eine neue Methode der präparativen Mikrochemie 171

B. SAMMELREFERATE.

HELLER, K., Arsen, Antimon, Zinn, Wismut 369

WASITZKY, A., Mikromethoden zur Eiweißbestimmung in der Medizin und Biologie 85

WASITZKY, A., Der Nachweis und die Bestimmung kleiner Mengen von Cholesterin und anderen Sterinen 289

C. BÜCHERSCHAU 113, 310, 407

D. VARIA 117, 314, 410

SACHREGISTER.

MIKROCHEMIE, BAND XIV (1933/34).

(Die ***kursiv*** gedruckten Schlagwörter betreffen Referate.)

Seite

Anorganische Mikroanalyse, Mikrokemi. En översikt över den oorganiska mikroanalysens metoder. Fyra föredrag (H. Alber) 115, 313

Antimon, Sammelreferat: Arsen, Antimon, Zinn, Wismut (K. Heller) . 369

Arsen, Sammelreferat: Arsen, Antimon, Zinn, Wismut (K. Heller) . . 369

Äthylensulfide, Thioketone, Thioacetale und Äthylensulfide (A. Schönberg) 311

Autoxydation, Über den Verlauf von Oxydationsvorgängen (H. Wieland) 409

Barium, Über die Verwendung der Rhodizonsäure als Indikator zur maßanalytischen Bestimmung des Bariums (A. Friedrich und S. Rapoport) 41

Barium, Kleine mikrochemische Beiträge. XI. (L. Rosenthaler) . . . 368

Bariumsulfat, Kleine mikrochemische Beiträge. X. (L. Rosenthaler) . 269

Beryllium, Über eine neue Tüpfelreaktion des Berylliums (A. S. Komarowsky und N. S. Poluektoff) 315

Blei, Beitrag zur mikroelektrolytischen Bleibestimmung (H. Brantner und F. Hecht) 30

Blei, Die stufenphotometrische Mikroanalyse des Trink- und Nutzwassers. XI. Mitteilung (C. Urbach) 331

Borsäure, Eine empfindliche Reaktion auf Borsäure (A. S. Komarowsky und N. S. Poluektoff) 317

Calcium, Quantitative Drop Analysis (II). Determination of Calcium (R. P. Miller and P. L. Kirk) 15

Calcium, Contribution a l'étude du microdosage du calcium dans le serum sanguin (P. Wenger, Ch. Cimerman et P. Borgeaud) . . . 141

Calciumsulfat, Kleine mikrochemische Beiträge. X. (L. Rosenthaler) . 269

Chlorbenzoesäure, Kleine mikrochemische Beiträge. XI. (L. Rosenthaler) 364

Cholesterin, Sammelreferat: Der Nachweis und die Bestimmung kleiner Mengen von Cholesterin und anderen Sterinen (A. Wasitzky) . . 289

Seite

Eisen, Mikrobestimmung des Eisens (F. Rappaport und H. Hohenberg) 119

Eisen, Über die mikrojodometrische Bestimmung des Eisens. — Eisengehalt von Schilddrüsen (J. Straub) 251

Eiweiß, Sammelreferat: Mikromethoden zur Eiweißbestimmung in der Medizin und Biologie (A. Wasitzky) 85

Enzyme, Detection of Enzymes by "Spot" Tests (B. N. Sastri and M. Sreenivasaya) 159

Erdalkalien, Kleine mikrochemische Beiträge. XI. (L. Rosenthaler) . 368

Erdalkali-Sulfatfällungen, Kleine mikrochemische Beiträge. X. (L. Rosenthaler) 268

Fluoreszenzanalyse, Fluorescencanalysis in ultraviolet light (J. A. Radley and J. Grant) 311

Gesteinsanalytisches Praktikum (E. Dittler) 313

Harnsäure, Sur une micro-méthode de dosage de l'acide urique dans l'urine (P. Wenger, Ch. Cimerman et A. Maulbetsch) 129

Harnstoff, Methodisches zur Mikrobestimmung des Reststickstoffes und des Harnstoffes im Blut (F. Rappaport) 49

Harnstoff, Contribution a l'étude du microdosage de l'urée dans le sang (P. Wenger, Ch. Cimerman et A. Maulbetsch) 132

Heizgranate, Notiz über die Heizgranate nach Dr. Schöbel für die Kohlenstoff-Wasserstoff-Bestimmung nach Pregl (H. Lieb) 263

Indikan, Beiträge zur Mikro-Indikanbestimmung im Blut (F. Rappaport und H. Engelberg) 75

Isopropylantipyrin, Kleine mikrochemische Beiträge. XI. (L. Rosenthaler) 366

Jod, Beitrag zur mikroanalytischen Jodbestimmung und über einen bewährten Mikro-Trockenapparat (W. Münster) 23

Jod, The Detection of Iodine in Organic Compounds (J. L. Goldberg) . 161

Jodide, Nachweis und Mikrobestimmung von Silber, Quecksilber und Jodiden (I. M. Korenman) 181

Kalium, Eine neue Tüpfelreaktion auf Kalium (N. S. Poluektoff) . . 265

Kapillarhalter, Neuestes Zubehör zu einem „Mikroskop für mikrochemische Arbeiten" (Kapillarhalter, mikrochemischer Manipulator), nebst einigen Bemerkungen zur qualitativen Mikroelektrolyse (H. Alber) 219

Kapillarlumineszenzanalyse, Die Kapillarlumineszenzanalyse im pharmazeutischen Laboratorium (H. Neugebauer) 311

Kieselsäure, Die stufenphotometrische Mikroanalyse des Trink- und Nutzwassers. VIII. und IX. Mitteilung (C. Urbach) 189

Kobalt, Kleine mikrochemische Beiträge. XI. (L. Rosenthaler) . . . 368

Kohlenstoff-Wasserstoff-Bestimmung, Notiz über die Heizgranate nach Dr. Schöbel für die Kohlenstoff-Wasserstoff-Bestimmung nach Pregl (H. Lieb) 263

Kolloidchemie, Wörterbuch der Kolloidchemie (A. Kuhn) 116

Seite

Kupfer, Die Bestimmung kleinster Kupfermengen durch Messung ihrer katalytischen Wirkung (F. L. Hahn) 280

Magnesium, Stufenphotometrischer Beitrag zur quantitativen Bestimmung des Magnesiums mittels Titangelb nach Kolthoff (C. Urbach und R. Baril) 343

Manipulator, Neues Zubehör zu einem „Mikroskop für mikrochemische Arbeiten" (Kapillarhalter, mikrochemischer Manipulator), nebst einigen Bemerkungen zur qualitativen Mikroelektrolyse (H. Alber) 219

Mikroelektrolyse, Eine neue Apparatur zur Mikroelektrolyse (H. Brantner und F. Hecht) 26

Mikroelektrolyse, Neues Zubehör zu einem „Mikroskop für mikrochemische Arbeiten" (Kapillarhalter, mikrochemischer Manipulator), nebst einigen Bemerkungen zur qualitativen Mikroelektrolyse (H. Alber) 219

Mikromethoxylbestimmung, Über eine neue Vorlageeprouvette für die Mikromethoxylbestimmung nach F. Vieböck und C. Brecher (L. Kahovec) 341

Mikro-Mineralanalyse, Bemerkungen zur quantitativen Mikro-Mineralanalyse (F. Hecht) 81, 283, 286

Mikro-Mineralanalyse, Bemerkungen zur quantitativen Mikro-Mineralanalyse (A. A. Benedetti-Pichler) 84, 285, 288

Mikroskop für mikrochemische Arbeiten, Neues Zubehör zu einem „Mikroskop für mikrochemische Arbeiten" (Kapillarhalter, mikrochemischer Manipulator), nebst einigen Bemerkungen zur qualitativen Mikroelektrolyse (H. Alber) 219

Mikro-Trockenapparat, Beitrag zur mikroanalytischen Jodbestimmung und über einen bewährten Mikro-Trockenapparat (W. Münster) . . . 23

Mineralanalyse, Manuel de Chimie Analytique Minérale (P. Wenger et G. Gutzeit) 407

Monosen, Eine neue Mikromethode zum Nachweis von Monosen in der Anwesenheit von reduzierenden Biosen (H. Tauber) 167

Natrium, Berichtigung (L. Rosenthaler) 267

Nutzwasser, Die stufenphotometrische Mikroanalyse des Trink- und Nutzwassers (C. Urbach).

VIII. Mitteilung 189
IX. Mitteilung 198
X. Mitteilung 321
XI. Mitteilung 331

Organische Mikro-Elementaranalyse, Über einen Versuch, ein neues Prinzip in der organischen Mikro-Elementaranalyse zu verwenden (K. Schwarz) 271

Oxydationsvorgänge, Über den Verlauf von Oxydationsvorgängen (H. Wieland) 409

Pflanzenchemie und Pflanzenverwandtschaft (H. Molisch) 114

Seite

Phenol, Kleine mikrochemische Beiträge. XI. (L. Rosenthaler) . . . 365
Phenolsäuren, Kleine mikrochemische Beiträge. XI. (L. Rosenthaler) 366
Phosphorsäure, Die stufenphotometrische Mikroanalyse des Trink- und Nutzwassers. IX. Mitteilung (C. Urbach) 198
Präparative Mikrochemie, Über eine neue Methode der präparativen Mikrochemie (J. Winckelmann) 171
Qualitative Analyse, Trattato di chimica analitica qualitativa. Volume primo (P. Falciola) 113
Qualitative chemische Analyse nach dem Schwefelnatriumgang (G. Vortmann und R. Lieber) 312
Qualitative Mikroelektrolyse, Neues Zubehör zu einem „Mikroskop für mikrochemische Arbeiten" (Kapillarhalter, mikrochemischer Manipulator), nebst einigen Bemerkungen zur qualitativen Mikroelektrolyse (H. Alber) 219
Quecksilber, Nachweis und Mikrobestimmung von Silber, Quecksilber und Jodiden (I. M. Korenman) 181
Radiometrische Analyse, Physikalische Methoden der analytischen Chemie. I. Teil: Spektroskopische und radiometrische Analyse. (W. Böttger) 407
Reststickstoff, Methodisches zur Mikrobestimmung des Reststickstoffes und des Harnstoffes im Blut (F. Rappaport) 49
Röntgenspektralanalyse, Praktikum der chemischen Analyse mit Röntgenstrahlen (G. v. Hevesy und E. Alexander) 408
Silber, Nachweis und Mikrobestimmung von Silber, Quecksilber und Jodiden (I. M. Korenman) 181
Silikofluoride, Kleine mikrochemische Beiträge. XI. (L. Rosenthaler) 363
Spektroskopische Analyse, Physikalische Methoden der analytischen Chemie. I. Teil: Spektroskopische und radiometrische Analyse (W. Böttger) 407
Sterine, Sammelreferat: Der Nachweis und die Bestimmung kleiner Mengen von Cholesterin und anderen Sterinen (A. Wasitzky) 289
Strontiumsulfat, Kleine mikrochemische Beiträge. X. (L. Rosenthaler) 269
Sulfate, Die stufenphotometrische Mikroanalyse des Trink- und Nutzwassers. X. Mitteilung (C. Urbach) 321
Thioacetale, Thioketone, Thioacetale und Äthylensulfide (A. Schönberg) 311
Thioketone, Thioacetale und Äthylensulfide (A. Schönberg) . . . 311
Trinkwasser, Die stufenphotometrische Mikroanalyse des Trink- und Nutzwassers (C. Urbach).
VIII. Mitteilung 189
IX. Mitteilung 198
X. Mitteilung 321
XI. Mitteilung 331
Trypsin, Über eine einfache tyndallmetrische Trypsinbestimmungsmethode (E. Herzfeld) 245

Seite

Tüpfelanalyse, Quantitative Drop Analysis (I). General Apparatus and Technique (P. L. Kirk) 1

Tüpfelanalyse, Quantitative Drop Aanalysis (II). Determination of Calcium (R. P. Miller and P. L. Kirk) 15

Unverseifbares, Eine Methode zur gravimetrischen Mikrobestimmung des Unverseifbaren (G. Gorbach und A. Sablatnög) 256

Veramon, Kleine mikrochemische Beiträge. XI. (L. Rosenthaler) . . 364

Wismut, Sammelreferat: Arsen, Antimon, Zinn, Wismut (K. Heller) . . 369

Zinn, Kleine mikrochemische Beiträge. XI. (L. Rosenthaler) 367

Zinn, Sammelreferat: Arsen, Antimon, Zinn, Wismut (K. Heller) . . . 369

Zucker, Die Anwendung der Benedict'schen Lösung zum Mikronachweis von Zucker im Urin und in anderen Lösungen (H. Tauber) 169

DRUCK ELBEMÜHL, WIEN, IX. BERGGASSE 31

ORIGINALABHANDLUNGEN.

QUANTITATIVE DROP ANALYSIS (I).

GENERAL APPARATUS AND TECHNIQUE[1].

By

PAUL L. KIRK.

From the Division of Biochemistry, University of California Medical School, Berkeley.

(Eingelangt am 29. Mai 1933.)

Development in the field of quantitative microchemistry has in general followed two distinct lines, first, elementary analysis by combustion of organic samples consisting of a few milligrams, and second, analysis by various means for traces of materials, frequently inorganic in nature, existing often as impurities. It is the purpose of this series of papers to outline a third type of development, viz. quantitative analysis for various constituents of solutions when the sample available is of the order of magnitude of a single drop. Since the applications of such methods as these are in the field of analysis of biologically important fluids such as blood, this work will be concerned chiefly with constituents of some biological interest and their determination in biological materials.

Concerning the utility of this type of method it is immediately apparent that such fields of endeavor as entomology, bacteriology and mycology might find them of great value. Likewise, in many cases the use of rats and mice may be made possible in metabolic and other biochemical investigations where larger animals such as dogs are now employed. The economics of such a substitution require no comment. Such special types of investigation as the metabolism of tissue cultured in vitro, or studies of cellular pro-

[1] Aided by a grant from the Research Board of the University of California.

cesses certainly require such specialized methods as these. In certain cases, analysis of finger blood instead of venous blood from the arm may be desirable. In such cases, these methods may be applied by the clinician. Many other applications to special problems will be apparent to the investigator.

The considerations of such a development may be divided into two classes, first, the question of sensitivity and dilution, and second, the type of method which might best be applied to such special systems. Various methods[2] have been developed in blood analysis, in which the samples used were of the same order of magnitude as the samples used in this work. They depended, however, on diluting the sample until it could be handled in ordinary equipment. This unavoidably reduced the sensitivity and lowered the possible accuracy. It very early became apparent that to retain a high degree of accuracy special apparatus must be constructed in order to avoid excessive dilution. The second consideration, dealing with the type of method, must also be dealt with from the standpoint of accuracy. Colorimetric methods at their best are not highly precise. On a scale comparable with this work, even the microcolorimeter requires a dilution which is too high to even realize the ordinary precision of colorimetry. Gravimetric methods are also impractical until a balance can be constructed having a sensitivity of about 0,01 γ (0,00001 mg.) and capable of weighing a total load of at least 1 g. This is not theoretically impossible, and various balances of this or greater sensitivity have been developed. They usually have not been capable of carrying as great total load as desirable. We hope ultimately to develop a reasonably simple balance having characteristics capable of making it useful for gravimetric procedures on the scale of these methods. For the present, volumetric methods are the only ones which are capable of high accuracy on minute volumes. Moreover, they have the advantages of speed and simplicity. Consequently, our developments up to the present time have been entirely in the field of volumetric methods.

[2] Jeghers, H. J., and Meyers, V. C., J. Lab. Clin. Med., **15**, 982 (1930); McClendon, J. F., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **27**, 773 (1930); Kok, J. A. F., Arch. neerland. physiol., **16**, 132 (1931); Yoshimatsu, S., and Uga, Y., Tohoku J. Exptl. Med., **19**, 156 (1932).

In order to carry out all types of volumetric analyses, it was necessary to develop general apparatus for measurement of sample, titration, filtration, centrifugation, heating, stirring, and detection of endpoints, all these processes being capable of precise application to minute amounts. Moreover, to achieve a maximum of utility such apparatus must be relatively inexpensive and easy to construct. In the apparatus described here, these conditions have constantly been kept in mind.

Apparatus.

Measurement of sample: The type of pipette found useful for this purpose has been described by P. L. KIRK and R. CRAIG[3]. It consists of a simple capillary pipette into the top of which is sealed a fine hypodermic needle, using KRÖNIG cement[4]. The liquid being measured is then controlled by a 0,5 ml. tuberculin syringe, which may be used with a series of pipettes of various volumes. The pipettes are calibrated by weighing the amount of mercury delivered, and are rinsed out with water after measurement of the sample, in order to produce no drainage error. These pipettes are conveniently made with volumes ranging from about 0,01 ml. to 0,2 ml.

Vessels for titration, precipitation, etc.: In many cases where only titration is necessary and where the volume is quite small, a microscope slide is suitable for the titration vessel. If the volume is larger, and heating is unnecessary, a cell made by grinding a spherical or cylindrical depression in a thick slide is preferable. Such cells are available on the market since they are used in histological work, and they are not difficult to construct, if this should be necessary. If one resorts to construction of such cells, the grinding is accomplished with a metallic rod of proper diameter rotated with a stirring motor and using wet carborundum powder as an abrasive. Such cells are preferable to those obtained commercially because the cups produced are frosted rather than clear, thus making the indicator colors more

[3] J. Lab. Clin. Med., **18**, 81 (1932).

[4] PREGL, F., „Die quantitative organische Mikroanalyse", 3rd German Edn., p. 45, Berlin 1930.

distinct. Frosting of the bottoms of all the titration vessels described is desirable for this reason.

When heating is necessary, and in general when precipitations must be made, a vessel having the general shape of a small watch-glass, but with a conical rather than a round bottom, and a cross section of about three quarters of a inch, are most practical. These should also be provided with a handle by sealing a short section of small glass rod to the edge of the vessel. Such containers may easily be constructed from a glass tube of about 10 mm. diameter by extensive flaring followed by sealing and pulling off the bottom. In some cases, as when the volume is unusually large, vessels of a casserole shape and having a capacity of about 0,5 to 1,0 ml. are useful.

Stirrer: In all titrations and precipitations, vigorous stirring is essential. With volumes such as are used here the conventional stirrer is obviously impractical. A very satisfactory stirrer is shown in Figure I. A wooden block *a* carries an electro-

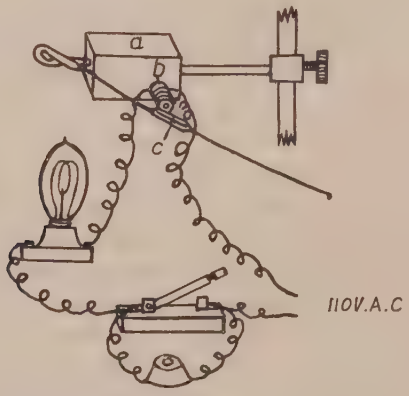


Figure. I. Drop stirrer. (One fourth natural size.)

magnet *b* removed from a small electric buzzer. Also inserted in the block is a glass tube, so bent that it passes in front of the magnet core, and about 2 mm. from it. At the point opposite the magnet core, a piece of iron *c* is sealed inside the tube. Above this point the tube is drawn out to obtain flexibility, and below the iron it is likewise drawn out rather finely, being terminated

by a thread which is preferably bent downward a trifle at the tip. A 100 watt resistance lamp is inserted in the electric supply line in series with the magnet in order to reduce the current to the correct amount, and a switch and push button are also inserted in parallel with each other to start and stop the stirring. When only momentary stirring is desired, the push button is used and when it is desired to stir continuously, the switch is closed. On application of 110 volt alternating current the stirrer is actuated to vibrations corresponding to the frequency of alternation, usually 60 cycle. This produces a violent local agitation combined with a swirling action in the drop, and gives no difficulty from spattering or spreading of the liquid. The entire apparatus is mounted on a swivel clamp so that the thread may be applied at any angle to the liquid.

Burettes: Three types of capillary burettes have been constructed. All of these have been made from thick walled capillary tubing of about 0,5 mm. bore. This makes the possible accuracy of reading volumes in the tube about 0,02 to 0,03 mm^3. Figure II shows a type of burette somewhat similar to the type used by K. Linderström-Lang and H. Holter[5]. This type works on the principle of having the titrating solution on top of a mercury thread which is controlled at the bottom by a plunger arrangement. This mercury control device is constructed from steel and consists of a plunger 2 mm. in diameter working within a steel cylinder. The plunger bearing is made mercury tight by use of a metallized wood gasket fastened inside the steel jacket. The plunger is driven in or out by means of a screw which has 40 threads to the inch and is 4 cm. in length. On the screw is mounted a large circular head for fine adjustment and a smaller knurled head for rapid rotation. This entire device slips over the glass tube and is fastened to it by de Khotinsky cement.

The upright measuring tube is mounted in front of the supporting board and carries a longitudinally split meter stick on its sides. On this is mounted a slide rule index *b*, the cross hairs of which may be adjusted on the mercury meniscus, thus making

[5] Linderström Lang, K., and Holter, H., Ztschr. physiol. Chem., **201**, 9 (1931).

accurate reading easy and avoiding parallax. A stopcock *c*, on the top of the tube provides for filling the burette. The stopcock is filled with the titrating solution, the mercury run up to the tube junction, the stopcock opened and the mercury dropped, leaving the liquid follow down the tube. Gravity fills the delivery side of the burette tube. *d* is a device for interchanging capillary tips, either on account of breakage or in order to deliver the titrating solution at varying angles to suit the type of titrating vessel and

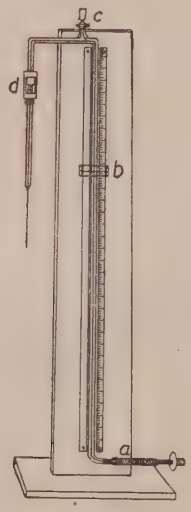


Figure II. Upright capillary burette. (One ninth natural size.)

other arrangements of the apparatus. It consists of two brass collars with an open sided coupling between, which draws the collars together. These collars are fastened to the tubes with de Khotinsky cement. The ends of the glass capillary tubes which join inside the coupling are ground square, and a little rubber cement applied to the ground surfaces makes a satisfactory gasket.

The control of this type of burette is extremely positive and the setting of the mercury meniscus may easily be made as close as can be read. Its chief disadvantage is the fact that some types of

solutions oxidize the mercury and deposit a residue in the tube. The total capacity of such a burette is usually 0.1 to 0.2 ml.

Another burette which is in use and which avoids the difficulty mentioned is shown in Figure III. This burette is constructed essentially as are the pipettes previously described except that a screw *a* is used to depress the plunger of the 0.5 ml. tuberculin syringe *b*. A coil spring provides the reverse motive power for the plunger and prevents backlash. This burette is provided with a scale cut from graph paper. The entire burette is mounted on a

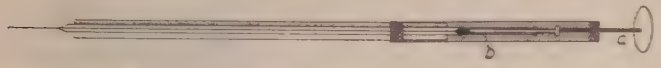


Figure III. Syringe capillary burette. (One eighth natural size.)

swivel clamp to allow rotation. Since there is no mercury present in this type of burette, the difficulty found with the first burette described is eliminated. The disadvantages are, first, a lag due to compression or expansion of the air in the burette and syringe, and second, the manual inconvenience of manipulating the screw due to its position. If the titration is carried out slowly at the endpoint, the first difficulty is avoided.

Figure IV shows the most universally applicable type of burette

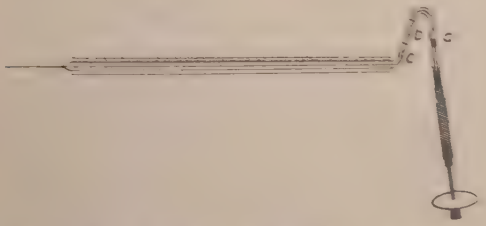


Figure IV. Combination capillary burette. (One eighth natural size.)

so far designed. It has a mercury backing which is controlled as described for the first type of burette, but the mercury is not allowed to pass the upper bend in the tube, since the volume of

bulb *a* is as great as the total volume of the part of the burette which is filled with titrating solution. This leaves an air space between the liquid and the mercury, but this space is a minimum and equal to the useful volume of the burette. Thus the lag is not eliminated but is reduced to a minimum, and much of the positive action of the mercury backing is retained. Bulbs *b* and *c* serve to alter the range of volume. Bulb *c* is smaller in volume than the scaled stem, and bulb *b* is smaller than the combined volume of the stem and bulb *c*. Thus there are three zero points on the burette and three volume ranges. No solution can come in contact with the mercury, thus avoiding the difficulty of the first burette described, and the manual inconvenience of the second burette is eliminated. The capillary tip of the burette is always immersed in the solution being titrated as is already the standard technique in micro titration[6].

Calibration of all of these burettes is accomplished as follows: — the variation in the bore of the tube is determined by measuring the length of a short mercury thread over successive intervals of the tube. Usually, though not necessarily, a complete burette full of mercury is then weighed. Following this, a burette full of water is weighed in a small, tightly stoppered vessel. The difference between the volumes found with mercury and with water is attributable to the incomplete drainage of the water. If sufficient time is allowed for drainage, as should always be done, this drainage error is surprisingly small. To the average volume of water delivered per scale division, the corrections found for bore variation by the mercury thread method are now applied since the average length of thread may be assumed to correspond with the average bore which in turn corresponds to the average volume per unit of length. This assumption may not be rigidly correct, but is sufficiently near to the actual state of affairs.

Titration table: In working with glass apparatus terminated by threads and capillaries, considerable breakage is liable to occur. To reduce this hazard to a minimum and to provide for greater ease of manipulation, the titration table shown in Figure V was constructed. *A* shows the mechanism for raising and lowering

[6] Emich, F., "Microchemical Laboratory Manual", p. 2, New York, 1932.

the table, *a* being the coarse and *b* the fine adjustment. Using this, the titration table holding the vessel and auxiliary apparatus may always be raised to approach the fine tips of the stirrer and burette, and the movement may be made as delicate as is necessary. The table should always be lowered to change the apparatus on it.

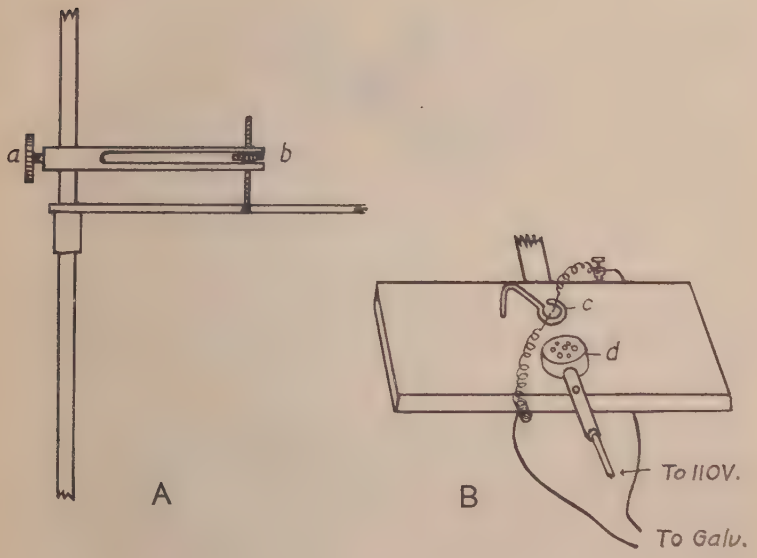


Figure V. Titration table (One third natural size.)

B is the table proper, which is constructed of wood, painted white. Its dimensions are $2\frac{1}{2}$ by $4\frac{1}{2}$ inches. On it is shown the removable glass rod support for vessels to be heated by the micro hot plate shown, and also the electrode arrangement to be used if electrometric endpoints are to be employed.

Heating equipment: For rapid heating, an ordinary inexpensive electric cigar lighter *d*, in Figure V, makes a very satisfactory micro hot plate. If materials must be maintained at water bath temperature, the water bath shown in Figure VI is very useful. A coil of oxidized surface chromel wire of small gauge

is immersed directly in the water. Appropriate resistance in a 110 volt electric supply line will give satisfactory operation. The bath in use by us produces visible steam in about 15 to 20 seconds and boils the water in about one minute when approximately three amperes are passed through the coil. This bath is very

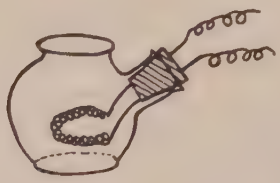


Figure VI. Micro water bath. (One half natural size.)

simply constructed from a glass bulb of about 1½ inch diameter. The top is flared so that the conical titration vessels fit conveniently.

Filtration apparatus: In dealing with precipitates weighing a few γ ($\gamma = 0{,}001$ mg.), transfer of the precipitate is generally impractical. It is preferable to form and to titrate the precipitate in the same vessel when the method calls for titration of a precipitate. If the solution is to be titrated, it can be more readily transferred than can the precipitate. The filter shown in Figure VII meets these requirements. The construction is carred out by flaring the end of a capillary tube and sealing into the flare a sintered glass disk *a*, of about 5 mm. diameter. If the precipitate to be handled is reasonably coarse, it is easy to obtain a filter disk which will retain it. In case it is too fine for any available filter, it is expedient to dip the filter into a dilute suspension of very fine asbestos and apply a vacuum which deposits a thin but tight filtering layer on the outside of the glass disk. By maintaining a slight vacuum, this layer adheres and may be used in perfect safety for the filtration. With such a filter the precipitate remains behind and may be thoroughly washed with a few drops of wash solution and titrated without transfer. Also,

the same procedure transfer the filtrate quantitatively to the vessel *b*, where it also may be further utilized. The details of manufacture of sintered filter disks of Pyrex glass will appear at a later date. In case proper filters of the type described cannot be obtained, a somewhat less satisfactory filter may be constructed

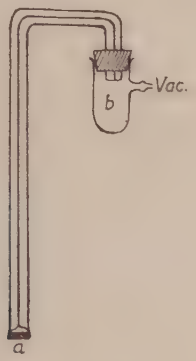


Figure VII. Micro external filter. (One half natural size.)

by sealing a piece of fine mesh platinum gauze over the flared end of a thick walled capillary tube and on this depositing a pad of asbestos held by vacuum.

Centrifugation: In the analysis of biological fluids, the use of the centrifuge is generally unavoidable, and it is frequently desirable even when it may be avoided by filtration or other means. The particular solution which was found for this problem in this laboratory may not be the most convenient for other laboratories where these methods are put in use. It consisted of building a small table centrifuge, $5\frac{1}{2}$ inches in height, and 4 inches in diameter. The main upright shaft was carried in a ball bearing bicycle hub. On the lower end of this shaft was attached a small gear type air turbine which was separately encased. The upper end of the shaft carried a head 2 inches in diameter, constructed from a single brass plate, and to this were attached removable brass cups, made by boring lengthwise holes, $\frac{1}{4}$ inch in diameter, in brass rods 1 inch long and $\frac{1}{2}$ inch in dia-

meter. Steel pins were inserted in the sides of the cups for attachment to the head. These cups accomodated conical glass tubes of 6 mm. diameter and 25 mm. length whose capacity was about 0.5 ml. They rested on small rubber disks having a depression in the center. The rotating mechanism was entirely enclosed in a brass cylinder 4 inches in diameter and provided with a lid. The centrifuge was driven by compressed air from the service outlets and was probably capable of attaining about 25,000 r.p.m. While the speed was not accurately measured, the centrifuge was found to be much more efficient than the standard electrically driven machine. Five minutes at about one half to two thirds full speed sufficed for complete clarification of blood serum.

In those cases where such special construction is not available, a standard centrifuge could be altered for this purpose, either by attachment of a special head and cups, or by adaptation of standard metal cups to accommodate small glass centrifuge tubes. It is always desirable to utilize tubes of the proper size rather than to use large tubes, i. e. 15 ml., with these small volumes, since a much cleaner separation may be obtained, and subsequent taking of sample is simplified. Also, the speed of the standard electric centrifuge is such that the centrifugation by such means would be considerably slower than with the centrifuge described here.

Miscellaneous equipment: Various methods of carrying out electrometric titrations are under investigation. Some of these have been shown to be applicable to certain titrations. Since no perfectly general electrometric method is so far available, the discussion of this question will be deferred to later communications in connection with special applications of the general technique.

Since finger blood constitutes a simple source of analytical material, a blood lancet should be available. Likewise, suitable magnifying lenses are almost indispensable. For this purpose a large diameter reading glass of low power is much to be preferred to a small glass of higher power. Such glasses can conveniently be mounted in a stationary position in front of the titration vessel, though this may in some cases interfere with other manipulation.

Discussion.

It is not the purpose of this paper to detail analytical procedures but rather to describe general equipment and its uses so that all sorts of chemical manipulation may be carried out on a minute scale. The procedures used in specific analyses will follow in this series. It will suffice for this discussion to state that every piece of apparatus described has been carefully checked for utility and accuracy, and found to be entirely satisfactory. For example, it is nearly always possible to titrate a sample with an accuracy of $\pm$ 0,2 to 0,3 per cent. In more involved procedures than a simple titration the accuracy obtained in the procedures so far tried has compared quite favorably with that in ordinary macro and micro methods. It seems to be entirely possible to even increase the accuracy over many ordinary micro procedures since the apparatus is better adapted to the specific purpose than is frequently the case with methods in general use.

A word should be included relative to the designation of units of such small weights and volumes. In conformity with general microchemical usage, we shall in all cases refer to 0,001 mg. as γ[6]. This has also been termed μg. by some authors. In analogy with this convention, it seems logical to use the designations $mm^3 = \mu l. = \lambda$. Such a procedure would simplify discussion considerably if the letter lambda were used with this significance, and we shall in future adhere to this usage. Using this convention, since 1 l. of normal solution contains 1 equivalent, 1 ml. contains 1 milliequivalent and 1 λ contains 1 microequivalent. Also the product of the number of λ by the normality is equal to the number of micro- or μ equivalents. In order to retain uniformity in the final designation of concentrations of biological materials, we shall continue to calculate results to such commonly accepted designations as mg. per cent, though it is to be noted that the number of γ per λ is equivalent to the number of mg. per ml. or grams per liter. This fact obviously makes the calculation in terms of these units relatively simple.

Summary.

Description is given of general apparatus and technique whereby quantitative volumetric analyses may be performed on minute

liquid samples of the order of magnitude of a single drop.

The possible applications of such methods to biological and clinical investigations are pointed out.

The accuracy which may in general be expected from the application of these methods is indicated.

The conventions of volume and weight designations are discussed on the basis of this type of analytical routine.

Quantitative Drop Analysis (II).

Determination of Calcium[1].

By

R. P. Miller and Paul L. Kirk.

From the Division of Biochemistry, University of California Medical School, Berkeley.

(Eingelangt am 29. Mai 1933.)

For the first drop analytical method to be studied, the determination of calcium was chosen for three reasons, first, the very great physiological and clinical importance of this element, second, the fact that its determination in physiological fluids on the usual scale has been extensively studied, and third, because nearly every necessary operation in volumetric analysis is required in its determination.

It was first necessary to show that minute amounts of calcium in small volumes of simple solutions could be accurately determined. A satisfactory procedure for this analysis was evolved, following which the application of the method to blood serum or plasma could be attempted. As a starting point on blood serum, the precipitation method of B. Kramer and F. F. Tisdall[2] was taken. This method of precipitation of calcium oxalate from the whole serum or plasma avoids the necessity of removal of proteins with its consequent dilution and disturbance of normal volume relationships. Its simplicity recommends it as a desirable method, though the original procedure of separation of the precipitate from the solution left something to be desired from the standpoints of technique and accuracy. At least a part of these difficulties was due to the centrifuging, and these had been overcome on the usual scale by the use of the special filter described by P. L. Kirk and C. L. A. Schmidt[3]. The general procedure of these authors was successfully adapted to the scale of drop analysis of blood serum without loss of accuracy and in spite of the fact that technical

[1] Aided by a grant from the Research Board of the University of California.

[2] J. Biol. Chem., **47**, 475 (1921).

[3] J. Biol. Chem., **83**, 311 (1929).

handling losses and other possible errors might be expected to be greater.

All apparatus used was that described in the preceding paper of this series. Reference will in general be made to it by name only in this paper.

Method.

The method used for simple calcium containing solutions will first be described. The sample is measured with the syringe pipette into one of the conical vessels previously described. The pipette is rinsed once with water, adding the rinse water to the sample. Approximately saturated ammonium oxalate solution is now added. This should be in about the same volume as the original sample and may conveniently be done with the same pipette, or, if the pipette is to be used to measure a series of samples, it may be added from a second pipette. Stirring with the oscillating stirrer is maintained during the precipitation and digestion, the entire operation being best performed on the titration table. The mixture is heated over the micro hot plate until steam is evolved, and ammonia is added in slight excess. The digestion over the hot plate is continued for a few minutes. If much water evaporates during the digestion, a drop or two may be added while the digestion is proceeding. The vessels are laid aside, protected from dust, for a half hour to an hour to ensure complete precipitation. Following this, the solution is removed from the precipitate using the micro external filter. Depending on the amout of calcium present, and on the porosity of the filter, the sintered filter disk may or may not retain all of the calcium oxalate. It is found that with these small volumes, the size of precipitate is less than with larger volumes of the same concentration. Presumably, more particles form per unit volume under these conditions, and thus the size of the particles is diminished. In case the filter does not retain all of the precipitate, it is immersed in a dilute suspension of asbestos rendered quite fine by grinding in a mortar. This should be prepared as described by KIRK and SCHMIDT in order that it will not give a blank titration with permanganate. The vacuum is turned on momentarily, and if the asbestos suspension is correctly made, a thin tight layer will adhere to the filter. Care must be

taken that too large a pad is not deposited for it will make the later washing of the filter with sulfuric acid difficult. Without releasing the vacuum entirely the filter is now placed squarely in the precipitation vessel at the side of the drop. The vacuum removes the solution with little disturbance of the precipitate which is now washed thoroughly by dropwise addition of dilute (1 to 6) ammonia which has been saturated with calcium oxalate and filtered before use. From three to six washings are sufficient, though the washing is so rapid that any reasonable number would not be troublesome. Following the washing and after all of the liquid has been sucked through the capillary into the receiving vessel, the vacuum is released and a drop of 2 N sulfuric acid solution is used to dissolve the precipitate. The asbestos pad, if present, is removed with a drop of this acid and further small additions are used to wash out the filter disk. When all of the precipitate has been dissolved, both on the vessel and from the filter, the solution is placed on the micro water bath and both are adjusted on the titration table. The capillary burette, either the type shown in Figure III or in Figure IV of the preceding article, is filled with potassium permanganate solution of appropriate concentration, usually 0.01 to 0.05 N, depending on the burette capacity and the amout of calcium in the sample. The stock solution of permanganate is about 0.05 N, and this is diluted to the desired concentration immediately before starting a series of titrations. It must not be used after the day on which it is diluted. The tip of the burette is adjusted opposite the stirrer tip on the same level and rather close to it. The titration table, containing the material to be titrated on the hot water bath, is carefully raised until the burette and stirrer tips are immersed. When the temperature of the solution is correct, i. e. when he water bath is maintained just under boiling, the titration is performed by rotating the screw head of the burette. This must proceed sufficiently slowly that the color of the permanganate is dissipated as rapidly as added. The operator focuses his attention on the thread of permanganate emerging from the burette tip in the liquid. This thread is rapidly drawn into the stirrer and mixed, and its rate of disappearance indicates the approach of the end-point. A magnifying glass is useful at this stage, and a strong

light and white background almost essential. When the rate of disappearance of permanganate is noticeably slow, a tiny crystal of diphenylamine is added, and the titration continued cautiously to the first appearance of a blue violet coloration in the liquid. It is absolutely essential that the addition of diphenylamine be delayed until just before the endpoint is reached, for otherwise it is broken down in the hot acid solution, and not only ceases its function as an indicator, but actually obscures the endpoint which would be given by the permanganate solution itself. The burette scale is now read and the volume calculated from the calibration chart.

In the analysis of blood serum or plasma, and by analogy other biological materials, the general procedure given above is followed except for certain details. Centrifugation will in general be necessary for clarification of the material. In the case of whole blood, it may be allowed to clot in the centrifuge cone and then centrifuged vigorously in the micro centrifuge until a clear serum is obtained. The sample is taken and the pipette rinsed as described, giving a 1 to 1 dilution as prescribed by KRAMER and TISDALL. A volume of saturated ammonium oxalate equal to the volume of the original serum is added with stirring to the cold solution and the whole allowed to stand without heating for one half to one hour. Heating at this stage invariably causes precipitation of protein. No ammonia is added to the blood serum since it is already buffered to a satisfactory pH. Immediately before filtration the solution in contact with calcium oxalate is diluted about five times with water. This reduces the viscosity of the serum rendering the filtration less difficult. The remainder of the procedure is carried out exactly as described for simple solutions. We have found it invariably necessary with blood serum to use asbestos on the filters which we use. While this is somewhat inconvenient, it is not wholly a disadvantage since the presence of the asbestos in the solution being titrated is helpful in rendering the endpoint visible. The permanganate used for titration is habitually about 0,01 N for blood calcium determinations.

The optimum size of the serum sample for calcium determination is probably about 50 λ. This will correspond to about 5 γ of calcium in the sample. We have successfully determined this

element in samples of about half this size, and we believe that this limit could be lowered even further by use of a burette of somewhat finer bore.

The calculation of results is simplified by the fact that 1 λ of 0,01 N potassium permanganate solution is equivalent to 0,2 γ of calcium, just as 1 ml. of 0,01 N potassium permanganate solution is equivalent to 0,2 mg. of calcium.

Results.

In studying simple calcium chloride solutions, the volume of sample invariably taken was of the order of one half drop, i. e. 27,71 λ. The normalities of the calcium chloride solutions varied from about 0,01 N to 0,1 N. The results of this series of determinations are shown in Table I.

Table I.

Analysis of Known Calcium Chloride Solutions.

Volume of sample λ	Normality of $KMnO_4$	Titer-$KMnO_4$ λ	Normality of $CaCl_2$	Normality of $CaCl_2$ Calculated	Deviation from true normality per cent
27,71	0,0490	50,79	0,0908	0,0898	— 1,1
		51,29		0,0906	— 0,2
		50,92		0,0900	— 0,9
		51,19		0,0905	— 0,3
	0,0245	50,95	0,0454	0,0450	— 0,9
		51,62		0,0456	+ 0,4
		51,49		0,0455	+ 0,2
		51,12		0,0452	— 0,4
	0,0098	25,56	0,00908	0,00903	— 0,6
		25,83		0,00912	+ 0,4
		25,43		0,00898	— 1,1
		25,73		0,00909	+ 0,1
		86,16	0,03035	0,03048	+ 0,4
		85,83		0,03035	0
		86,03		0,03040	+ 0,2
		85,73		0,03029	— 0,2

It is observed that these data are sufficiently accurate to justify the attempt to apply the method to biological fluids. In fact, they compare very favorably with the results of ordinary micro calcium determinations on simple solutions and are not greatly inferior to the accuracy obtainable even from macro procedures.

Table II.

Analysis of Beef Serum.

Volumes of sample λ	Normality of $KMnO_4$	Titer-$KMnO_4$ λ	Serum Ca found mg. per cent	Deviation from mean per cent
112,60	0,0098	64,2	11,2	+ 2,3
		62,3	10,9	— 0,5
		63,4	11,0	+ 0,5
		63,0	11,0	+ 0,5
		63,3	11,0	+ 0,5
83,57		47,3	11,1	+ 1,4
		46,7	10,9	— 0,5
		46,5	10,9	— 0,5
		47,1	11,0	+ 0,5
		46,8	11,0	+ 0,5
27,71		15,0	10,6	— 3,2
		15,7	11,1	+ 1,4
		15,1	10,7	— 2,3
		15,5	11,0	+ 0,5
		15,3	*10,9*	— 0,5
			Average 10,95	

Data in columns 3, 4 and 5 of this table have been reported to one decimal only since this uncertainty is less than the total uncertainty of the method.

Table II gives the results of analyses of beef serum which was taken from a large amount available in the laboratory. It was thus possible to carry out a considerable number of analyses on identical material to check the possible accuracy more carefully

than would have been the case with smaller numbers of analyses of a number of sera.

Table III.

Analysis of Tail Blood of *Peromyscus truei* GILBERTI.

Volume of sample λ	Normality of $KMnO_4$	Titer-$KMnO_4$ λ	Serum Ca found mg. per cent	Deviation from mean per cent
27,71	0,0098	14,45	10,2	0
		14,25	10,1	—1,0
		14,5	10,3	+1,0
			Average 10,2	

Data in columns 3, 4 and 5 of this table have been reported to one decimal only since this uncertainty is less than the total uncertainty of the method.

The analyses shown in Table III were designed to check the feasibility of analysis of serum from small amounts of whole blood. Four drops of tail blood from one specimen of wild field mouse (*Peromyscus truei* GILBERTI) were placed in a centrifuge cone and allowed to clot followed by centrifugation. Sufficient serum was obtained for three analyses, the results of which are given.

If the deviations in the blood serum data of Tables II and III are compared with those of corresponding analyses for calcium given in the literature, it will be found that the accuracy of this method is at least as great as in other methods on the usual size of sample, and in fact, seems to be greater than most such data. This is a rather unexpected result but the cause can undoubtedly be found in the fact that precision of measurements depends on proper design. In the usual methods, so small a part of the total volume of the burette is used as to introduce a relatively great error. Likewise, a considerable error may be expected in measurement of the sample. In properly designed apparatus, the precision of volumetric measurement is more readily obtained than is precision in the determination of the endpoint for example. Since

we were able to use 0.01 N rather than the frequently used 0.005 N permanganate, the endpoint would be expected to be at least as sharp as in the usual method. The additional use of diphenylamine probably rendered the endpoint even more sensitive than is the usual case. This general principle of diminishing volumes while retaining the accuracy of measuring them, appears to us to be a principle well worth application to all sorts of chemical procedures since it makes possible the use of more concentrated and therefore more stable reagents, and the more accurate detection of endpoints as well. In many cases it would also avoid the usual dilutions taking place in the titration by addition of the titrating fluid.

It is to be noted that the average absolute deviation from the mean is about 0.05 γ of calcium, which represents the limit of sensitivity of the method. This is of the order of the limit of qualitative detection of many materials, and indicates that this type of method can be rendered quantitative on amounts which have usually been handled only in a qualitative fashion.

With respect to the time required for this method, we have found it to be slightly more rapid than the methods generally employed. The small saving of time is effected in the filtration and washing, since all the other procedures require about the same amount of time as in other methods.

Summary.

A method has been described for the analysis of calcium in blood serum and other calcium containing solutions, in volumes varying from about 0.025 ml. to 0.1 ml., i. e. from about one half to two drops.

Data are presented showing that the possible accuracy of this method is at least as good as in the ordinarily used calcium methods employing much greater volumes of sample containing proportionately larger amounts of calcium.

Beitrag zur mikroanalytischen Jodbestimmung und über einen bewährten Mikro-Trockenapparat.

Von

Wilhelm Münster.

Aus dem Chemischen Laboratorium der Bayerischen Akademie der Wissenschaften in München.

(Eingelangt am 5. Juli 1933.)

In dem jüngst erschienenen Buche „Die Praxis der quantitativen organischen Mikroanalyse" von Dr. phil. Alfred Friedrich[1] ist die maßanalytische Bestimmung von Jod in einem von Th. Leipert[2] neuerdings abgeänderten Vrfahren angegeben (S. 102). Dieses Verfahren lehnt sich an die maßanalytische Bestimmung von Methoxyl nach F. Vieböck und C. Brecher[3] an. Schon vor längerer Zeit wurden auch am hiesigen Institut die Jodanalysen in ähnlicher Weise ausgeführt. Die guten Erfolge führten dann weiter zu einer noch etwas vereinfachteren Form der Bestimmung, die im folgenden kurz beschrieben werden soll.

An Stelle des Spiralen- oder Perlenrohres benützt man ein Verbrennungsrohr von der in Fig. 1 angegebenen Form. Die Länge des Rohres beträgt etwa 50 cm, die lichte Weite wie üblich 7 bis 8 mm. Das Einleitungsrohr hat die gleichen Ausmaße wie dasjenige eines Mikro-Zeiselapparates. Kurz vor dem Ansatz des Einleitungsrohres ist eine Verengung angebracht, durch welche die unten beschriebene Oxydation des im Rohr sich ausscheidenden Jods wesentlich erleichtert wird. Man kann das Rohr an dieser

[1] Verlag Franz Deuticke, Leipzig und Wien (1933).

[2] s. a. Th. Leipert, Mikrochemie, Pregl-Festschrift, S. 266 (1929).

[3] F. Vieböck und C. Brecher, B., **63**, 3207 (1930).

Stelle auch zu einer Kugel aufblasen. Ein Rohr mit mehreren Verengungen oder Kugeln anzuwenden, ist nicht erforderlich und auch nicht ratsam, da ein solches nur unnötigerweise an Stabilität verlieren würde.

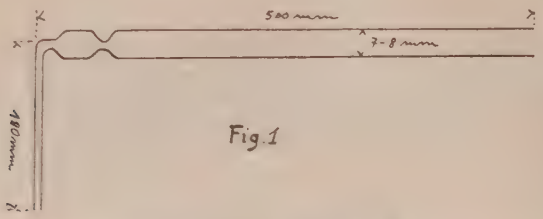


Fig. 1

Der Verlauf einer Verbrennung sei kurz angegeben: Das gereinigte und getrocknete Verbrennungsrohr wird in der von F. PREGL[4] angegebenen Weise mit den Platinkontaktsternen beschickt und die Drahtnetzrollen übergeschoben. Eine bauchige Vorlage — wie man sie auch für die Mikro-Zeiselbestimmung benützt — füllt man mit 2 bis 3 ccm einer Brom-Essig-Mischung[5], taucht das Einleitungsrohr bis auf den Boden hinein und führt dann erst das Schiffchen mit der eingewogenen Substanz in das Rohr. Man schließt den O_2-Gasometer über eine Waschflasche als Blasenzähler an und verbrennt bei einer Gasstromgeschwindigkeit von 8 Blasen in 10 Sekunden. Die Verbrennung auch von sehr jodreichen Substanzen kann man in etwa 10 Minuten zu Ende führen. Man dreht dann die Flammen ab, läßt im Gasstrom erkalten und entfernt Schiffchen, Kontaktsterne und Drahtnetzrollen. Um nun das meist an der Verengung des Rohres abgeschiedene Jod zu oxydieren, gibt man dem Rohr eine etwas schräge Lage und läßt ungefähr 2 ccm Brom-Eisessig einfließen. Die Verengung bewirkt, daß die Lösung an dieser Stelle zurückgehalten wird. Man wartet 10 Minuten und spült dann zuerst das Rohr und danach die Vorlage aus in einen 200-ccm-ERLENMEYER-KOLBEN, in den man vorher einige Kubikzentimeter einer Natriumazetatlösung gegeben hat. Die Titration erfolgt in der von F. VIEBÖCK und C. BRECHER angegebenen Weise.

Die ganze Bestimmung erfordert, von der Einwaage an ge-

[4] FRITZ PREGL. Die quantitative organische Mikroanalyse (1930).
[5] B., **63**, 3207 (1930).

rechnet, nicht mehr als eine Stunde, da vor allem das etwas umständliche Ausspülen und Trocknen des Spiralenrohres und das Beschicken mit Sodalösung entfällt und die Verbrennung selbst rascher ausgeführt werden kann. Das hier verwendete Rohr läßt sich trotz des rechtwinkelig angesetzten Einleitungsrohres noch ohne Schwierigkeit handhaben.

Folgende Beleganalysen sollen zeigen, daß durch diese Art der Verbrennung die Genauigkeit der Methode in keiner Weise gelitten hat.

Substanz	Einwaage mg	Verbrauch ccm Thiosulfat n = 0,01156	Gef. % J	Ber. % J
1. Jodnitrobenzoesäure	4,016	7,13	43,42	43,33
	4,330	7,66	43,27	
$C_7H_4O_4NJ$	4,886	8,67	43,40	
		n = 0,02255		
2. Dihydrovomicidindijodmethylat	5,487	4,48	38,95	38,93
	5,467	4,46	38,91	
$C_{22}H_{28}O_3N_2 \cdot 2CH_3J$				
		n = 0,02235		
3. Jodoform	3,915	7,99	96,49	96,69
CHJ_3	3,340	6,83	96,68	

Anschließend sei eine kurze Beschreibung eines Mikro-Trockenapparates gegeben, der sich als überaus praktisch erwiesen hat. Die Notwendigkeit der Schaffung eines solchen Hilfmittels ergibt sich daraus, daß sowohl dem alten PREGL'schen Trockenapparat wie auch der bekannten Trockenpistole manche Nachteile anhaften. So genügt der PREGL'sche Trockenapparat meist nicht mehr, wenn man hygroskopische Substanzen zu trocknen hat oder wenn es erforderlich ist, Hochvakuum anzuwenden. Man greift dann in diesen Fällen zur Trockenpistole und gibt damit die Annehmlichkeiten des PREGL-schen Trockenblockes auf, die besonders darin bestehen, daß man rasch jede beliebige Temperatur einstellen kann, der ganze Apparat klein und handlich ist und keine Gefahr besteht, durch Zer-

springen eines Glasgefäßes bei Verwendung brennbarer Heizflüssigkeiten Verluste wertvoller Substanzen zu erleiden. Die Vorteile des PREGL'schen Heizblockes und der Trockenpistole kann man in einfacher Weise verbinden, wenn man den Trockenapparat in der Form baut, wie Fig. 2 zeigt.

Fig. 2

Man verwendet naturgemäß am vorteilhaftesten Normalschliffe, und zwar Nr. 11 (Greiner und Friedrichs, Stützerbach). Diese haben ein Ansatzrohr, welches genau in die weite Bohrung des Trockenblockes paßt. Die Unebenheit im Rohrinnern, verursacht durch den Schliffansatz, ist so gering, daß sie in keiner Weise das Hinein- und Herausschieben des Schiffchens stört. In das Rohr vor dem Glashahn bringt man, nach beiden Seiten durch einen kleinen Wattebausch abgeschlossen, eine Schicht von $CaCl_2$, durch welches die beim Aufheben des Vakuums einströmende Luft getrocknet wird. In das Kölbchen von etwa 50 ccm Inhalt bringt man Phosphorpentoxyd. Der Apparat ist leicht auseinanderzunehmen und daher auch leicht zu reinigen und neu zu füllen. Es ist nicht notwendig, ihn im Trockenblock mit Korkstücken festzuhalten. Zum Ein- und Ausschieben des Schiffchens nimmt man den Exsikkator aus dem Trockenblock und legt ihn in einen passenden Ausschnitt eines entsprechend groß gewählten Korkes. Ist man gezwungen im gleichen Raume zu arbeiten, so wird man auch den Fortfall des Geräusches der bei Verwendung des PREGL'schen Trockenapparates ständig laufenden Pumpe angenehm empfinden.

Eine neue Apparatur zur Mikroelektrolyse.

Von

Hermann Brantner und Friedrich Hecht.

Aus dem Analytischen Laboratorium der Universität Wien.

(Eingelangt am 20. Juli 1933.)

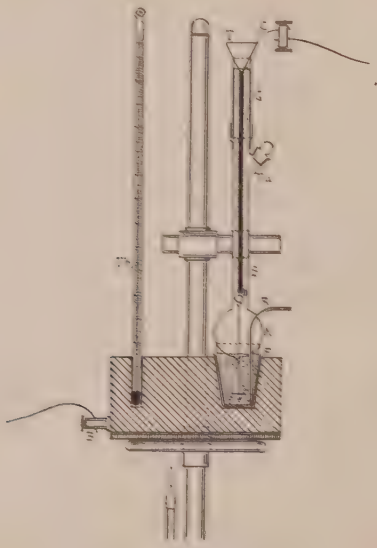
Im Zuge von mikroanalytischen, an synthetischen Mineralen durchgeführten Versuche, welche die Brauchbarkeit der makroanalytischen Methoden in mehr oder weniger abgeänderter Form für die Mineralmikroanalyse erweisen sollten, ergab sich auch die Aufgabe, die auf diesem Gebiete angewendeten elektrolytischen Makroverfahren bezüglich ihrer Anwendbarkeit als Mikroverfahren zu prüfen.

Wir mußten uns hierbei einer Vorrichtung bedienen, welche die Nachteile der bestehenden Apparaturen[1] vermeidet und sich zur Lösung der genannten Aufgabe besonders eignet. Die zu diesem Zweck konstruierte Vorrichtung, deren Schnitt (parallel zur kürzeren Seite) die Abbildung in ungefähr einem Viertel der natürlichen Größe zeigt, sei im folgenden näher beschrieben:

Auf dem Ring eines Metallstativs ruht, durch eine Asbestplatte isoliert, der Aluminiumblock A (110 : 70 : 48 mm) mit zwei Bohrungen für das Thermometer Th und die Tiegelelektrode P. Letztere, ein auf der Innenseite bis zur bezeichneten Höhe mattierter Platintiegel, ist durch die Platinfolie F gegen Verunreinigung und Beschädigung seiner Außenfläche geschützt und durch die Glaskugel K verschlossen, welche mit der Öffnung O und dem eingeschmolzenen Knierohr R versehen ist und die sich oben in dem seitlichtubulierten Rohr S fortsetzt, über welches mittels eines Gummi-

[1] F. Pregl, Organische Mikroanalyse, 3. Aufl., S. 185 (1930).
B. L. Clarke u. H. W. Hermance, Journ. Amer. chem. Soc., 54, 877 (1932).
A. Okač, Mikrochemie, XII, 205 (1933).

schlauches das kurze Glasrohr G gezogen ist. Auf diesem sitzt der langstielige Trichter T, dessen untere Öffnung zugeschmolzen und dessen Rohr mit Quecksilber gefüllt ist. Vom unteren Ende ragt in das Quecksilber der eingeschmolzene, außen zur Öse gebogene Platindraht D, welcher die Scheibenelektrode E trägt, deren oberes Ende hakenförmig gebogen ist. Dieser möglichst enge Haken paßt streng federnd auf den unteren Teil des Platindrahtes D, so daß ständig guter Kontakt gewährleistet ist. Die



Verbindung mit der Stromquelle bildet einerseits der mit Klemmschraube versehene Kupferdraht C, der durch das obere Trichterende in das Quecksilber eintaucht, anderseits die in den Aluminiumblock eingelassene Klemmschraube B. Der Metallblock wird mittels eines Mikrobrenners auf die gewünschte Temperatur gebracht. Das Volum des Elektrolyten kann zwischen 2 und 12 ccm betragen, wobei die Einstellung des entsprechenden Abstandes der Scheibenelektrode vom Tiegelboden durch Verschieben des Rohres G erreicht wird. Die Waschflüssigkeit wird unter gleichzeitigem Abhebern des Elektrolyten durch R nach Öffnung des Schliffstopfens durch den seitlichen Tubus Tu gegossen.

Die beschriebene Vorrichtung besitzt folgende Vorzüge:

Der Metallheizblock gewährleistet Konstanz der Temperatur während der Elektrolyse und kann außerdem zur Trocknung der abgeschiedenen Metall- oder Metalloxydüberzüge in der Tiegelelektrode bei einer bestimmten Temperatur verwendet werden. Die aufgesetzte, dicht schließende Glaskugel verhindert weitgehend die Verdunstung der Elektrolytflüssigkeit und damit die Konzentrationsänderung des Elektrolyten. Das eingeschmolzene Knierohr und der seitliche Tubus ermöglichen nach Beendigung der Elektrolyse ein gründliches Waschen der Elektroden ohne Stromunterbrechung sowie eine bequeme und verlustlose Überführung des Elektrolysenfiltrats in ein anderes Gefäß. Außerdem gestatten diese Einrichtungen während der Elektrolyse das Einbringen von Flüssigkeiten, bezw. die Bewegung des Elektrolyten durch einen Gasstrom.

Durch den Umstand, daß die Elektroden ohne Glasansätze konstruiert sind und ausschließlich mit Platin in Berührung kommen, wird eine Verunreinigung hintangehalten und eine exakte Wägbarkeit von Kathode und Anode auf der Mikrowaage gewährleistet.

Die Anwendung der Tiegelelektrode läßt das Elektrolytvolum in einem nicht allzu kleinen Bereich variieren und beinhaltet außerdem alle Vorteile der mattierten Classen'schen Schalenelektrode.

Bei der ersten Anwendung dieser Apparatur, einer Studie über die mikroelektrolytische Abscheidung des Bleis als Superoxyd, gestattete ferner die Verwendung der Tiegelelektrode die Einhaltung des Prinzips der mikroanalytischen Methodik, die Fällung, Überführung in die Bestimmungsform und deren Wägung womöglich im gleichen Gefäß vorzunehmen. Es ist zu erwarten, daß sich die beschriebene Vorrichtung auch zur mikroelektrolytischen Abscheidung und Bestimmung von anderen elektrolytisch bestimmbaren Metallen eignen wird.

Beitrag zur mikroelektrolytischen Bleibestimmung.

Von

Hermann Brantner und Friedrich Hecht.

Aus dem Analytischen Laboratorium der Universität Wien[1].

(Eingelangt am 20. Juli 1933.)

Wie in der vorhergehenden Arbeit erwähnt wurde, sollten mit Hilfe einer neuen Mikroelektrolysenapparatur verschiedene elektrolytische Makroverfahren daraufhin untersucht werden, ob sie sich in entsprechend abgeänderter Form als Mikroverfahren in den Gang von nach Mikromethoden durchgeführten Gesamtmineralanalysen einfügen ließen.

Als erste Aufgabe in dieser Reihe stellten wir uns die der elektrolytischen Abscheidung des Bleis als Superoxyd. Neben R. Heinze[2], anläßlich seiner ersten mikroelektrolytischen Bestimmungen, haben sich in neuerer Zeit H. Töpelmann[3] sowie G. v. Hevesy und R. Hobbie[4] mit dieser Frage befaßt. H. Töpelmann legte in einer ausführlichen Arbeit die Abscheidungsbedingungen des Bleis als Superoxyd unter Zusatz von Kupfer fest und widmete ein Kapitel auch der Elektrolyse von Mengen zwischen 1 und 10 mg. Da der Zusatz von Kupfer die Methode wegen der Erschwerung des weiteren Analysenganges für den oben angeführten Zweck ungeeignet macht, war das Ziel dieser Arbeit, die Bedingungen der mikroelektrolytischen Bleiabscheidung ohne Zusatz von Kupfer aufzu

[1] Dem Vorstande des Analytischen Laboratoriums, Herrn Prof. Dr. A. Franke, danken wir für sein warmes Interesse und seine stete Förderung ergebenst und aufrichtigst.

[2] R. Heinze, Ztschr. angew. Chem., **27**, 237 (1914).

[3] H. Töpelmann, Journ. prakt. Chem., **121**, 289 (1929).

[4] G. v. Hevesy und R. Hobbie, Ztschr. analyt. Chem., 88, 1 (1932).

finden. G. v. Hevesy und R. Hobbie (l. c.) bestimmten Bleimengen von $10 \cdot 10^{-6}$ g in Mineralen, konnten jedoch nach ihrer Methode das Blei in vielen Fällen nicht quantitativ abscheiden (gefunden wurden zwischen 53% und 100% des wirklichen Bleigehaltes) und wendeten aus diesem Grunde ein radioaktives Kontrollverfahren an.

Zu den in der Folge angeführten Versuchen verwendeten wir eine salpetersaure Lösung von Plumbum aceticum Kahlbaum p. a. „mit Garantieschein", deren Gehalt nach der Bleisulfatmethode, und zwar durch Makrofiltrations-, Mikrofiltrations- und Mikrorückstandsbestimmungen wiederholt sorgfältig bestimmt worden war[5]; sie enthielt pro 1 g Lösung $1{,}045_2$ mg Pb und wurde in die Tiegelelektrode eingewogen. Zu diesem Zweck wurde der vorher auf der Mikrowaage gewogene, mattierte Tiegel mit einigen Tropfen Wasser und Salpetersäure beschickt, mit einem Uhrglas bedeckt und auf der Makrowaage gewogen. Nach Einbringen der gewünschten Anzahl Kubikzentimeter der Lösung mit einer Meßpipette wurde neuerlich möglichst rasch gewogen. Die Wägung läßt sich in kurzer Zeit einwandfrei bewerkstelligen und der dabei auftretende Fehler kann bei 2 g Lösung höchstens 0,01% betragen. Die Lösung wurde in dem Tiegel auf einem Mikrowasserbad[6] zur Trockene verdampft und mit einer bestimmten Menge verdünnter Salpetersäure zur Erreichung der zur Elektrolyse geeigneten Konzentration aufgenommen. Nun wurde der Tiegel in die Bohrung des auf die entsprechende Temperatur gebrachten Alumniumblocks eingesetzt, die ebenfalls auf der Mikrowaage gewogene Scheibenelektrode durch die Öffnung der Glaskugel geschoben, in die Platindrahtöse eingehackt und in den Tiegel gesenkt, so daß die Kugel die Tiegelöffnung möglichst dicht verschloß. Bei ruhendem Elektrolyten wurde ein Schlauch über die äußere Öffnung des Knierohres gezogen und abgeklemmt. Mittels dieses Schlauches als Verbin-

[5] Im Verlauf dieser Bestimmungen konnten wir die Feststellung von H. Bernhardt, Ztschr. analyt. Chem., **67**, 97 (1925), über die Gehaltsänderung von verdünnten Bleilösungen in Glasgefäßen dahingehend bestätigen, daß der Gehalt unserer Lösung zwar in einem Jenaer Meßkolben wochenlang unverändert blieb, in einer Schliffkappenflasche aus gewöhnlichem Glas jedoch sich nach einigen Tagen etwas änderte. So große Änderungen aber, wie in der zitierten Arbeit angegeben sind, konnten wir nicht feststellen.

[6] W. Reich-Rohrwig, Mikrochemie, **XII**, 189 (1932).

dungstück wurde nach Beendigung der Elektrolyse das Filtrat bei geöffneter Klemme in ein ERLENMEYER-Kölbchen abgesaugt, bei dessen doppelt durchbohrtem Stopfen sich zwei rechtwinkelig gebogene Glasrohre befanden.

I.

Da die Frage des analytischen Faktors für das elektrolytisch abgeschiedene Bleisuperoxyd noch immer nicht in befriedigender Weise gelöst ist und sich in der Literatur die widersprechendsten Angaben vorfinden (siehe Tabelle I), war es in erster Linie nötig, festzustellen, ob sich im mikroelektrolytischen Verfahren das Bleisuperoxyd als Wägungsform überhaupt eignet. Der Umstand, daß bei der gegebenen Oberfläche und den angewendeten Bleimengen die Schichtdicke des Bleisuperoxyds nur $^1/_{20}$ bis $^1/_{25}$ derjenigen betrug, die beim Makroverfahren in der CLASSEN'schen Schalenelektrode erhalten wird, legte in Anlehnung an die Theorie, daß das Übergewicht des Niederschlages von mechanisch eingeschlossenem Wasser, bezw. Salpetersäure herrühre, die Vermutung nahe, daß bei diesem Mikroverfahren ein konstanter und nahezu dem theoretischen Verhältnis entsprechender Faktor erhalten werden müsse.

Zur Klärung der Frage des Faktors wurden die elektrolytisch abgeschiedenen Bleisuperoxydfällungen nach der Wägung auf der Mikrowaage in 6 Tropfen Wasser, 6 Tropfen Salpetersäure p. a. und einigen Tropfen verdünntem Wasserstoffsuperoxyd (1 Tropfen Perhydrol p. a. Merck auf 5 ccm Wasser) gelöst, die Lösung mit 2 Tropfen konz. Schwefelsäure (p. a. für forensische Zwecke zur Trockene verdampft, auf einer elektrischen Heizplatte abgeraucht, der Rückstand 10 Minuten lang bei 600° geglüht und als $PbSO_4$ gewogen. Die gleichen Mengen Salpetersäure, Schwefelsäure und Wasserstoffsuperoxyd ergaben in mehreren Blindversuchen bei 600° im Mittel 0,012 mg Rückstand, welche Korrekturgröße bei allen Bleisulfatrückstandsbestimmungen nach dem Mikroverfahren in Rechnung gesetzt wurde. Ebenso wurde vom Leergewicht der Tiegelelektrode die Gewichtszunahme der Scheibenelektrode nach der Elektrolyse abgezogen (zwischen 0,010 und 0,035 mg). Da nach den Angaben der Literatur neben der Trocknungstemperatur auch die Abscheidungstemperatur für die Zusammensetzung des Blei-

superoxyds maßgebend ist, sind beide Größen in der folgenden Tabelle, welche die Ergebnisse von 12 Versuchen zur Ermittlung des Faktors wiedergibt, angeführt. In Nr. 1 und 2 wurde die Anode mit Alkohol und Äther gewaschen.

Tabelle I.

Autor[7]	Trocknungs-temperatur	Für Mengen von g Blei	Faktor[8]
F. Rüdorff	120°	—	0,865
M. Lucas	ü. d. Fl.[9]	—	0,865
B. Neumann	180°—200°	—	th. F.
J. C. Bull	180°	—	th. F.
A. Hollard	200°	bis 1,0	0,853
		über 1,0	0,857
R. O. Smith	200°—230°	—	th. F.
L. Medicus	180°—200°	—	th. F.
J. H. S. Sand	ü. d. Fl.	bis 0,4	0,863
		über 0,4	0,865
B. Woiciechowski	230°	—	0,8643
J. G. Fairchild	ü. d. Fl.	—	th. F.
E. List	ü. d. Fl.	—	0,855
W. D. Treadwell	200°—230°	bis 0,1	th. F.
		0,1—0,3	0,865
		0,3—0,5	0,863
A. Classen	220°	bis 0,1	0,8658
		0,1—0,3	0,865
		über 0,3	0,8635
A. Fischer	200°—230°	bis 0,1	th. F.
		0,1—0,3	0,865
		0,3—0,5	0,863
		0,5—1,0	0,861
H. Töpelmann	230°—260°	—	0,8628
E. M. Collin	ü. d. Fl.	bis 0,1	th. F.
		0,1—0,4	0,8635
		0,4—0,5	0,8605
M. Garcia	100°—110°	bis 0,1	0,845
		0,2—1,0	0,851

[7] Ein Verzeichnis der Literaturstellen befindet sich am Ende der Arbeit.

[8] Der theoretische Faktor zur Umrechnung von PbO_2 auf Pb beträgt 0,8662 und ist hier mit th. F. bezeichnet.

[9] d. i. Trocknung über der Bunsenflamme.

Tabelle II.

	Absch. Temp.	Trockn. Temp.	Ausw. PbO_2	Ausw. $PbSO_4$	Faktor
1.	65°	50°	3,092 mg	3,829 mg	0,8460
2.	65°	50°	3,028	3,808	0,8591
3.	65°	260°	2,325	2,865	0,8418
4.	65°	260°	2,494	3,143	0,8609
5.	65°	260°	3,767	4,736	0,8589
6.	65°	260°	2,381	3,005	0,8622
7.	65°	260°	2,469	3,110	0,8605
8.	50°	260°	2,714	3,381	0,8511
9.	70°	260°	2,661	3,293	0,8454
10.	70°	260°	4,170	5,234	0,8575
11.	70°	260°	5,734	7,257	0,8646
12.	80°	260°	4,061	5,112	0,8600

Die gefundenen Werte weichen auch bei genau den gleichen Abscheidungs- und Trocknungstemperaturen um 1,5 bis 2,4% voneinander ab und es ist trotz der geringen Schichtdicke des abgeschiedenen Bleisuperoxyds keine konstante Zusammensetzung der Fällung zu erreichen.

Die Frage des analytischen Faktors der elektrolytischen Bleisuperoxydfällung ist also — mindestens für das Mikroverfahren — noch nicht befriedigend gelöst.

In allen weiteren angeführten Analysen wurde daher die quantitative Abscheidung des Bleis ohne vorherige Wägung des Bleisuperoxyds durch Rückstandsbestimmung als Bleisulfat nach der oben beschriebenen Methode kontrolliert.

II.

Eine der wichtigsten, bei der elektrolytischen Abscheidung des Bleis als Superoxyd zu erfüllenden Bedingungen ist die Einhaltung einer bestimmten Salpetersäurekonzentration, da bei einer zu kleinen Konzentration metallisches Blei an die Kathode geht, bei zu hoher Konzentration aber Zersetzungs- und Reduktionsvorgänge eintreten können, welche den quantitativen Verlauf der Analyse beeinträchtigen. Wie aus den Angaben der Literatur zu ersehen ist (Tab. III), liegt die für die quantitative Abscheidung des Bleis als Superoxyd optimale Salpetersäurekonzentration nicht

allzu weit von 15% entfernt. Die Werte der Tabelle gelten ausschließlich für Methoden ohne Zusatz von Kupfer und sind alle auf Gewichtsprozente umgerechnet.

Tabelle III.

Autor[10]	Gewichtsprozente HNO_3
J. C. Bull	8,5
B. Neumann	11,1—16,3
A. Kreichgauer	7,7—11,0
L. Medicus	11,1—16,3
S. Holzmann	8,5
F. A. Gooch und F. B. Beyer	13,2
J. H. S. Sand	10,0
Utz	16,3
W. D. Treadwell	12,5
A. Classen	bei 20° 8,5%, bei 65° 14,9
Lunge-Berl	10,9
F. P. Treadwell	11,1—12,5
A. Fischer	11,5
H. Biltz	anfangs 22,6% abnehmend bis 9,4
O. W. Holmes und D. P. Morgan	14,2
H. Bjørn-Andersen	9,5

Wie die in der folgenden Tabelle zusammengestellten, von uns gefundenen Ergebnisse zeigen, sind auch für die mikroelektrolytische Bleibestimmung von 15% stärker abweichende Salpetersäurekonzentrationen ungeeignet. Die weiteren Versuche wurden mit Salpetersäurekonzentrationen von 13% und 15% durchgeführt.

Tabelle IV.

Gew. % HNO_3	Temperatur	Stromstärke	Zeit	
5	20°	0,2 Ampère	40m	Hauptmenge kathodisch.
10	70°	0,3 „	50m	zirka 3% kathodisch, zirka 2% in Lösung.
20	20°	0,2 „	40m	etwas Blei kathodisch[11], Hauptmenge in Lösung.
25	20°	0,2 „	45m	anodisch fast nichts, Hauptmenge in Lösung.

[10] Siehe Fußnote 7.

[11] Die bei dieser Säurekonzentration auffällige kathodische Bleiabscheidung konnte nicht erklärt werden, jedoch haben F. A. Gooch und F. B. Beyer (siehe folgende Fußnote) bei einer Säurekonzentration von 13,7% ebenfalls kathodische Bleiabscheidung beobachtet.

III.

Neben der Salpetersäurekonzentration selbst sind auch Stromdichte und Reaktionstemperatur für den der quantitativen Abscheidung des Bleis ungünstigen Verlauf der elektrolytischen Nebenreaktionen maßgebend.

Zur Ausschaltung des Einflusses der durch elektrolytische Reduktion gebildeten salpetrigen Säure wird vielfach der Zusatz von Harnstoff zum Elektrolyten vor Beendigung der Elektrolyse empfohlen. Doch erwähnen F. A. Gooch und F. B. Beyer in einer Arbeit[12], daß bei einigen ihrer Versuche auch der Zusatz von Harnstoff keinen wesentlich günstigen Einfluß gehabt hätte, und H. Bjørn-Andersen[13] stellt fest, daß der Harnstoff auf die den Elektroden benachbarten Flüssigkeitsschichten nur langsam einwirken könne und außerdem eine teilweise Reduktion der Salpetersäure zu Ammoniak stattfinde, die die Salpetersäurekonzentration wesentlich beeinflusse.

Die in älteren Arbeiten angegebenen Stromdichten wurden während der Elektrolyse konstant gehalten und betrugen bei Zimmertemperatur zwischen 0,05 und 0,5 Amp., bei Temperaturen zwischen 50° und 70° bis 1,5 Amp. Später wurden Temperaturen bis zu 95° und höhere Stromdichten, bei Elektrolysen unter rascher Bewegung des Elektrolyten bis zu 11 Amp. angewendet.

J. G. Fairchild[14] arbeitet erstmalig mit einer gegen Ende der Elektrolyse gesteigerten Stromstärke (Temp. 50 bis 60°, anfangs 0,25 Amp., Ende 0,5 Amp.), und H. Töpelmann[15] wendet ebenfalls dieses Verfahren an (Temp. 20°, anfangs 0,3 Amp., Ende 0,5 Amp.).

Die von uns durchgeführten mikroelektrischen Versuche bei verschiedenen Temperaturen, Stromstärken und mit, bezw. ohne Harnstoffzusatz hatten die in der folgenden Tabelle zusammengefaßten Ergebnisse. Die für alle Bestimmungen gemeinsamen Bedingungen waren: Salpetersäurekonzentration 13% (außer Nr. 6, 7, 8 mit 15%), bedeckte Tiegeloberfläche zirka 20 cm², Zeitdauer 45 bis 55 Minuten. Der Harnstoff (150 mg) wurde 10 Minuten vor Beendigung der Elektrolyse zugesetzt.

[12] F. A. Gooch und F. B. Beyer, Ztschr. anorg. Chem., **61**, 286 (1909).
[13] H. Bjørn-Andersen, Ztschr. analyt. Chem., **89**, 178 (1932).
[14] J. G. Fairchild, Journ. Ind. Eng. Chem., **III**, Nr. 12 (1912).
[15] H. Töpelmann (l. c.).

Tabelle V.

Nr.	Temp.	Stromstärke in Amp.	Harnstoff	Angew. mg Pb	Gefunden mg Pb (als $PbSO_4$)	Fehler in %
1	90°	0,45	mit	2,151	1,950	— 9,4
2	80°	0,3 / 0,5[16]	„	3,886	3,492	— 10,2
3	50°	0,5	„	2,050	1,929	— 5,9
4	50°	0,6	ohne	2,503	2,310	— 7,7
5	70°	0,8	„	2,229	2,080	— 6,7
6	60°	0,6	mit	2,166	2,147	— 0,8
7	60°	0,6	„	3,251	3,235	— 0,5
8	70°	0,6	„	2,195	2,125	— 3,2
9	70°	0,3 / 0,5	„	2,113	2,081	— 1,5
10	70°	0,3 / 0,5	ohne	2,120	2,116	— 0,2
11	70°	0,3 / 0,5	„	2,269	2,250	— 0,8
12	70°	0,3 / 0,5	„	3,564	3,576	+ 0,3
13	70°	0,3 / 0,5	„	4,977	4,958	— 0,4
14	70°	0,3 / 0,5	„	1,179	1,174	— 0,4
15	70°	0,3 / 0,5	„	0,523	0,527	+ 0,8

Aus den gefundenen Werten ist folgendes zu ersehen: Die günstigste Temperatur zur mikroelektrolytischen Abscheidung des Bleis als Superoxyd ist 60—70°. Bei Stromstärken zwischen 0,3 und 0,6 Ampère beeinflussen Temperaturen unter 60°, bezw. über 70° das Resultat stark im ungünstigen Sinn. Bei 70° verhindern Stromstärken über 0,6 Amp. die quantitative Abscheidung des Bleisuperoxyds. Der Zusatz von Harnstoff ist von keinem wesentlichen, jedenfalls nicht von günstigem Einfluß. Es ist anzunehmen, daß wegen der sonst eintretenden Reduktion der Salpetersäure Temperatur und Stromstärke nur in engen Grenzen verändert werden dürfen, was bei den vorliegenden Konzentrationsverhältnissen noch wichtiger als bei dem entsprechenden Makroverfahren ist, da schon 0,1% der vorhandenen Salpetersäure als salpetrige Säure 4,2 mg PbO_2 reduzieren können. Ferner kann man vielleicht das Versagen des Harnstoffzusatzes dahingehend deuten, daß wahrscheinlich neben salpetriger Säure noch andere Bleisuperoxyd reduzierende, jedoch durch Harnstoff nicht zerstörbare Zersetzungsprodukte der Salpetersäure auftreten. Deren Einwirkung tritt im

[16] 0,3 / 0,5 bedeutet, daß die Stromstärke anfangs 0.3 Ampere betrug, in den letzten 10 Minuten jedoch auf 0,5 Ampere gesteigert wurde.

wesentlichen erst nach Abscheidung der Hauptmenge des Bleis in Erscheinung, was daraus hervorgeht, daß, wie unter anderen B. NEUMANN[17] und ebenso H. TÖPELMANN[18] erwähnen, bei zu lange fortgesetzter Elektrolyse vollständige Wiederauflösung des schon abgeschiedenen Bleisuperoxyds eintritt. Einige Versuche unserer Reihe, bei denen 2 Stunden lang elektrolysiert wurde, und die um vieles zu tiefe Bleiwerte ergaben, bestätigen ebenfalls diese Annahme. Auch bei Versuchen, bei denen zwischen 30 und 70 Minuten elektrolysiert wurde, machte die Einhaltung der jeweils von der Menge des angewendeten Bleis einigermaßen abhängigen günstigsten Dauer der Elektrolyse Schwierigkeiten. Die Optimalbedingungen der Abscheidung gehen nach alldem aus den Versuchen Nr. 10 bis 15 hervor (45 bis 55 Minuten Zeitdauer).

Da die auf Seite 32 angegebene Korrektur des Tiegelleergewichtes mittels der Kathodenzunahme nicht vollkommen exakte Resultate liefert, weil nach E. RICHTER[19] ein Teil des anodisch gelösten Platins auch nach beendeter Elektrolyse in Lösung bleibt, wurde in zwei Versuchen die Lösung des abgeschiedenen Bleisuperoxyds in Salpetersäure und Wasserstoffsuperoxyd in einen gewogenen Mikroplatintiegel übergesaugt und dort das Blei als Bleisulfat (Rückstandsbestimmung) gewogen.

In den beiden Versuchen wurde in 13 %iger Salpetersäure 45 Minuten lang bei 70° mit 0,3 – 0,5 Ampère elektrolysiert.

Angewendet Pb in mg	Gefunden mg Pb in mg	Fehler in %
2.069	2.071	+ 0,1
0.983	0.977	— 0,6

Wie aus diesen Resultaten zu ersehen ist, erfährt die Bestimmung durch die angewendete Methode eine wenn auch nicht wesentliche Verbesserung, die aber durch die größere experimentelle Umständlichkeit des Verfahrens wieder aufgehoben wird.

[17] B. NEUMANN, Theorie u. Praxis d. analyt. Elektrolyse der Metalle. S. 131 (1897).

[18] H. TÖPELMANN (l. c.).

[19] E. RICHTER, Ztschr. analyt. Chem. 89. 411 (1932).

Zusammenfassung.

In vorliegender Arbeit wurde versucht, eine Methode zur mikroelektrolytischen Abscheidung des Bleis als Superoxyd ohne Zusatz von Kupfer auszuarbeiten. Dabei zeigte sich, daß das elektrolytisch gefällte Bleisuperoxyd für das Mikroverfahren als Wägungsform ungeeignet ist und zur Bestimmung in eine andere Form übergeführt werden muß. Die quantitative Abscheidung des Bleis im Mikroverfahren ist in noch weit höherem Maß als im Makroverfahren von der Salpetersäurekonzentration, der Stromdichte, der Reaktionstemperatur und der Dauer der Elektrolyse abhängig. Nur bei genauester Einhaltung ganz bestimmter Bedingungen sind befriedigende Resultate zu erhalten. Auch der Zusatz von Harnstoff bringt keine entscheidende Verbesserung der Mikromethode mit sich. Für die eingangs erwähnte Aufgabe, nämlich die Abscheidung und Bestimmung des Bleis im Gange von Gesamtmineralanalysen nach dem Mikroverfahren, dürfte demnach die Fällung des Bleis als Sulfid und (nach Auflösen desselben in Salz- oder Salpetersäure) die Bestimmung nach dem Sulfatverfahren oder besser noch als Bleipikrolat[20] dem mikroelektrolytischen Verfahren vorzuziehen sein.

Verzeichnis der Literaturstellen zu den Tabellen I und II:

F. Rüdorff, Ztschr. angew. Chem., **198** (1892).
M. Lucas, Chem.-Ztg., **XX**, 15 (1896).
B. Neumann, Theorie und Praxis der analytischen Elektrolyse der Metalle, S. 131 (1897).
J. C. Bull, Ztschr. analyt. Chem., **41**, 657 (1902).
A. Hollard, C. r., **136**, 229 (1903).
R. O. Smith, Journ. Amer. chem. Soc., **27**, 1287 (1905).
L. Medicus, Techn.-Chem. Analysen, S. 18 (1906).
J. H. S. Sand, Chem. News, **100**, 269 (1910).
B. Woiciechowksi, Chem.-Ztg., **XXXVI**, R. 232 (1912).
J. G. Fairchild, Journ. Ind. Eng. Chem., **III**, Nr. 12 (1912).
E. List, Met. and Chem. Eng., **10**, 135 (1913).
W. D. Treadwell, Elektroanalyt. Meth., S. 148 (1915).
A. Classen, Quantit. Analyse durch Elektrolyse, 6. Aufl., S. 120 (1920).
A. Fischer, Elektroanalyt. Schnellmeth., S. 242 (1926).

[20] F. Hecht, W. Reich-Rohrwig und H. Brantner, Ztschr. analyt Chem., **95** (1933), im Druck.

H. Töpelmann, Journ. prakt. Chem., **121**, 289 (1929).
E. M. Collin, Analyst, **54**, 654 (1929).
M. Garcia, Quim. e Ind., **9**, 1 (1931).
A. Kreichgauer, Ztschr. anorgan. Chem., **9**, 89 (1895).
S. Holzmann, Pharmaz. Zentralhalle, **49**, 417 (1908).
F. A. Gooch und F. B. Beyer, Ztschr. anorgan. Chem., **61**, 286 (1909).
Utz, Farbenzeitung, **18**, 18 (1912).
Lunge-Berl, Chem.-techn. Unters.-Meth., S. 62 (1922).
F. P. Treadwell, Lehrb. d. analyt. Chem., **II**, 146 (1923).
H. Biltz, Ausführ. quantit. Analysen, S. 252 (1930).
O. W. Holmes und D. P. Morgan, Ind. Eng. Chem., Anal. Ed. **1**, 210 (1930).
H. Bjørn-Andersen, Ztschr. analyt. Chem., **89**, 178 (1932).

Über die Verwendung der Rhodizonsäure als Indikator zur massanalytischen Bestimmung des Bariums.

Von

A. Friedrich.

unter Mitarbeit von

S. Rapoport.

Aus dem Institut für medizinische Chemie der Universität in Wien.

(Eingelangt am 25. Juli 1933.)

R. Nietzky und Th. Benckiner[1] haben erstmalig über eine intensiv rot gefärbte Verbindung berichtet, welche Bariumsalze mit Rhodizonsäure liefern. F. Feigl[2] verwendete dann das Natriumsalz der Rhodizonsäure als hochempfindliches Reagens zum qualitativen mikroanalytischen Nachweis des Bariums. Später hat I. M. Kolthoff[3] versucht, das Bariumsalz der Rhodizonsäure als Indikator für die direkte Titration von Barium mit Schwefelsäure zu verwenden; er fand, daß Bariumrhodizonat als Indikator ungeeignet ist, da es durch das bei der Titration ausfallende Bariumsulfat inaktiviert wird. Dagegen ist es jedoch qualitativ möglich, mittels Rhodizonsäure einen Überschuß von Barium im Bariumsulfat nachzuweisen.

R. Strebinger und L. von Zombory[4] haben ohne Berücksichtigung der Befunde I. M. Kolthoff's die Verwendung des Bariumrhodizonates als Indikator zur maßanalytischen Bestimmung von Barium neuerlich versucht und sehr gute Ergebnisse

[1] B., **18**, 1839 (1885).

[2] Mikrochemie, **II**, 187 (1924).

[3] Pharmac. Weekbl., **62**, 1017 (1925); C., **1926**, I, 448.

[4] Ztschr. analyt. Chem., **79**, 1 (1930).

erzielt. Sie titrierten Bariumchloridlösungen nach Zusatz einiger Tropfen einer frisch bereiteten Lösung von rhodizonsaurem Natrium mit 0,2 n-Ammonsulfatlösung, mit 0,2 n-neutraler und -saurer Natriumsulfatlösung und mit 0,25 n-Schwefelsäure. Bei Titrationen in neutraler Lösung schlägt (nach erfolgter Fällung des gesamten Bariums als Sulfat) der rote Farbton des Indikators auf Gelb um (Natriumrhodizonat); bei Titrationen in saurer Lösung von Rot auf farblos. Die Anwendung von Natriumacetat zur Abstumpfung der freien Mineralsäure, desgleichen der Zusatz von Alkohol (zur Erhöhung der Empfindlichkeit) erwiesen sich als überflüssig.

Während die Titration von Bariumlösungen mittels Sulfatlösungen gut gelang, fanden die Autoren den umgekehrten Weg, die Titration von Sulfatlösungen oder Schwefelsäure mit Bariumchloridlösungen, als nicht gangbar. Bei Titration in neutralen Lösungen vollzieht sich der Übergang des gelben rhodizonsauren Natriums zum roten rhodizonsauren Barium nur allmählich; die Titration von sauren Sulfatlösungen oder freier Schwefelsäure mit Bariumchloridlösungen waren deshalb unmöglich, weil die in Freiheit gesetzte Rhodizonsäure von der überschüssigen Mineralsäure rasch zerstört wird.

Zur Bestimmung von Sulfat-Ionen mußte daher der indirekte Weg eingeschlagen werden, die Lösungen wurden mit einer gemessenen, überschüssigen Menge Bariumchlorid versetzt und nach Zusatz von rhodizonsaurem Natrium der Überschuß an Barium zurücktitriert. Auch diese Versuche ergaben gute Werte, gleichgültig, ob in neutraler oder saurer Lösung gearbeitet wurde.

In letzter Zeit berichtet M. S. Raeder[5] über die Anwendung von Natriumrhodizonat zur mikrotitrimetrischen Bestimmung von Schwefelsäure und Sulfaten. Der Autor bestimmte den Sulfatgehalt in konz. Salpetersäure, indem er nach völligem Verdampfen der Salpetersäure den Rückstand nochmals mit etwas konz. Ammoniak und Wasser anfeuchtete und abraucht, schließlich mit 3 Tropfen Wasser, 0,1 mg Natriumrhodizonat und 2 ccm Alkohol versetzt und mit 0,01 n-Bariumchloridlösung bis zum vollen Umschlag auf Rot titriert.

[5] C., 1932, II, 1478.

Nach den guten Erfolgen, die R. Strebinger und L. von Zombory[6] bei der indirekten Bestimmung von Sulfat-Ion mittels Rhodizonsäure erzielten, schien uns die Möglichkeit gegeben, diese Methode zur maßanalytischen Sulfatbestimmung im Harn, eventuell sogar als Mikromethode anzuwenden, da sie die Vorzüge der großen Einfachheit und Genauigkeit besitzt und überdies noch das Arbeiten in saurer Lösung gestattet, somit eine vorangehende Entfernung der Phosphate im Harn entfallen könnte. Es war jedoch erforderlich, die Methode einer genauen Nachprüfung zu unterziehen, da einige Widersprüche bestehen. So berichten die Autoren, daß die Titration von Schwefelsäure mit Bariumchlorlösungen unter Zusatz von Natriumrhodizonat nicht möglich ist, da die in Freiheit gesetzte Rhodizonsäure von der Mineralsäure rasch zerstört wird. Die Konzentration der Mineralsäure wäre hier, wenn man eine 0,2 n-Schwefelsäure in Betracht zieht, rund 1% ig. Anderseits kann aber umgekehrt eine Bariumchloridlösung ohne weiteres mit saurer Lösung (Schwefelsäure, salzsaures Ammonsulfat) titriert werden, obwohl mit fortschreitender Titration immer mehr freie Salzsäure gebildet wird, die schließlich das Ergebnis beeinflussen müßte. Auf die Anwendung von Natriumacetat zur Abstumpfung der Mineralsäure wurde überdies verzichtet.

Ferner berichtet I. M. Kolthoff von der Undurchführbarkeit der Methode, da das ausfallende Bariumsulfat den Indikator inaktiviert, ein Umstand, der von R. Strebinger und L. v. Zombory nicht berücksichtigt worden ist. Schließlich widerspricht die direkte Titration von Sulfat-Ion mit Bariumchloridlösungen, wie sie M. S. Raeder durchführt, den Erfahrungen von R. Strebinger und L. v. Zombory; auch der Zusatz von Alkohol, von welchem I. M. Kolthoff bemerkt, daß er die Empfindlichkeit steigere, scheint bei der Methode von Raeder von ausschlaggebender Bedeutung zu sein, während R. Strebinger und L. v. Zombory darauf verzichten.

Titration in saurer Lösung.

Für die Titrationsversuche in saurer Lösung mußte zunächst der vorangehende besprochene Widerspruch geklärt werden, welcher

[6] l. c.

aus dem verschiedenen Verhalten des Bariumrhodizonates und des Natriumrhodizonates gegenüber freier Mineralsäure hervorgeht. Das Ergebnis ist folgendes: Fügt man zu einer Lösung von Natriumrhodizonat etwas verdünnte Salzsäure, so wird dieses rasch zerstört, was im Verschwinden der gelbroten Farbe ersichtlich ist; auch bei unmittelbar später folgender Neutralisation tritt der Farbton nur mehr schwach oder gar nicht auf. Fügt man zu einer frisch bereiteten Lösung von Bariumrhodizonat verdünnte Salzsäure, so bleibt die rote Farbe zunächst bestehen und geht erst nach einiger Zeit allmählich zurück. Dieses Verhalten erklärt sich aus dem Umstande, daß Natriumrhodizonat echt gelöst ist und sofort mit der Säure in Reaktion tritt, indes das Bariumrhodizonat als fast unlöslicher Stoff zum Teil ausfällt, zum Teil aber als Suspensionskolloid die Lösung rot färbt.

Diese Versuche bestätigen zwar die Angaben von R. Strebinger und L. v. Zombory, legen jedoch die Frage nahe, ob es überhaupt möglich ist, eine Titration mit einem Indikator durchzuführen, der nicht echt gelöst ist, sondern als schwer lösliches Suspensionskolloid vorliegt und infolgedessen sich mit der zugefügten Maßflüssigkeit nur langsam umsetzen kann. Nach den Ergebnissen der von uns ausgeführten Titrationen ist dies nicht möglich. Die Titrationen haben wir mit genau gestellter 0,2 n-Bariumchloridlösung, welcher zur Verhinderung der Carbonatbildung etwas Salzsäure zugefügt war (0,01 n-Salzsäure), und 0,2 n-Schwefelsäure durchgeführt. Der Indikator wurde immer frisch bereitet und nie länger als höchstens 45 Minuten benützt. Hierzu wurden ungefähr 15 mg Natriumrhodizonat in 5 ccm Wasser bei Zimmertemperatur gelöst, vom ungelösten Anteil filtriert, das Filtrat in einem Stöpselfläschchen gut durchgeschüttelt und davon mittels Meßpipette entnommen. Bei jeder Titration wurden 7 ccm 0,2 n-Bariumchloridlösung aus der Bürette vorgelegt, mit 0,5 ccm Indikatorlösung versetzt, dann mit 0,2 n-Schwefelsäure zurücktitriert.

Es wurden neben richtigen Resultaten auch Fehlresultate erhalten; wenn man sich längere Zeit übt, werden die Fehlresultate seltener, die Abweichung geringer. Um von jeder subjektiven Beurteilung frei zu sein, ersuchten wir einige Herren des Institutes, die gleichen Titrationen öfters durchzuführen. Die gesammelten Ergebnisse zeigten ein buntes Durcheinander von Resultaten, aus

denen deutlich hervorgeht, daß das Titrationsergebnis von der individuellen Durchführung der Titration abhängt. Wenn langsam und vorsichtig titriert wird, verbraucht man zu wenig Schwefelsäure, da die Farbe des Indikators unter dem Einfluß der freien Säure und vielleicht auch unter dem Einfluß des ausfallenden Bariumsulfates schon vor der Erreichung des Endpunktes verschwindet. Wird rasch in einem Zuge titriert, so ergibt sich ein Mehrverbrauch an Schwefelsäure, da mit Erreichung des Titrationsendpunktes die Flüssigkeit noch angefärbt ist, desgleichen das ausgefallene Bariumsulfat nicht rein weiß, sondern ebenfalls durch mitgerissenes Rhodizonat gelblich ist. Nachdem diese Abhängigkeit der Ergebnisse von der individuellen Durchführung der Titration noch einmal experimentell überprüft wurde und bestätigt werden konnte, wurden die Versuche der Titration in saurer Lösung aufgegeben.

Titration neutraler Lösungen.

Die Titration von 0,2 n-Bariumchloridlösungen mit 0,2 n-Ammonsulfat, bezw. Natriumsulfatlösungen, wobei das rote Bariumrhodizonat in gelbes Natriumrhodizonat übergeht, hatte eher Aussicht auf Erfolg. Da eine Zerstörung durch freie Mineralsäure nicht in Frage kommt, könnte langsamer und vorsichtiger titriert werden, wodurch auch der langsamen Umsetzung des Bariumrhodizonates Rechnung getragen wäre. Als störend kam jedoch die von KOLTHOFF beobachtete Inaktivierung des Bariumrhodizonates durch das ausfallende Bariumsulfat in Frage. Diesbezügliche Versuche bestätigten die Angaben KOLTHOFF's.

Wir haben ungeachtet dessen die Titrationen in neutraler Lösung versucht, zumal bei Anwendung der Methodik für die Sulfatbestimmung im Harn ohnehin die Benützung von Vergleichslösungen erforderlich war. Es wurden in zwei Titrationskölbchen je 7 ccm 0,2 n-Bariumchloridlösung gegeben, dann beide mit der gleichen Indikatormenge versetzt und schließlich zur Abstumpfung der geringen Salzsäuremengen, welche die Bariumchloridlösung enthielt, noch etwas Natriumacetat zugefügt. Nun wurde in die Vergleichslösung überschüssiges Natriumsulfat zufließen gelassen, anschließend sofort die Probelösung auf den gleichen Farbton

titriert. Wird mit Rücksichtnahme auf die langsame Umsetzung des Bariumrhodizonates tropfenweise titriert, so erhält man keinen Farbenumschlag von Rot auf Gelb, sondern einen allmählichen Übergang von Rot über Rotgelb, Orange in Ockergelb; bei Anwendung größerer Mengen Natriumacetat ist der Endpunkt mehr chromgelb. Da das in der Vergleichslösung gefällte Bariumsulfat den Farbton der Lösung bald verändert, war es ausgeschlossen, auf den gleichen Farbton zu titrieren. Läßt man das Natriumsulfat im Strahl zufließen, so ist der Umschlag deutlicher, das ausgefallene Bariumsulfat jedoch durch mitgerissenes Bariumrhodizonat angefärbt. Eine erfolgreiche Durchführung der Titration in neutraler Lösung war sonach nicht zu erwarten.

Anwendung von hydrophilem Kolloid.

Um die Umsetzung des Bariumrhodizonates mit Natriumsulfat zu beschleunigen und somit rasch titrieren zu können, versuchten wir durch Zusatz eines hydrophilen Kolloides die Eigenschaften des Suspensionskolloides zu verändern und es so reaktionsfähiger zu machen. Fügt man zu einer Bariumchloridlösung etwas Gelatinelösung und versetzt dann mit Natriumrhodizonatlösung, so wird kein Bariumrhodizonat ausgefällt, sondern das ganze Bariumrhodizonat in kolloider Lösung gehalten; die rote opaleszierende Lösung ist klar durchsichtig. Das Bariumrhodizonat ist in dieser Form tatsächlich reaktionsfähiger, was sich darin zeigt, daß auf Zusatz verdünnter Salzsäure die Rotfärbung fast ebenso rasch verschwindet wie bei der wässerigen Lösung des Natriumrhodizonates.

Die rascher durchgeführten Titrationen in neutraler Lösung unter Zusatz von Gelatinelösungen ergaben wohl bessere Resultate als die früheren Bestimmungen, doch war es auch hier nicht möglich, bei der Titration genau den gleichen Farbton zu erreichen, wie ihn die Vergleichslösung anzeigt. Ob diese geringeren Abweichungen im Farbton durch das gleichmäßig verteilte Bariumsulfat bedingt sind, welches in der übertitrierten Vergleichslösung in größerer Menge vorhanden ist als in der Probelösung, oder ob die Inaktivierung des Bariumrhodizonates durch Bariumsulfat bei Gegenwart der Gelatine erhöht wird, sei dahingestellt.

Nachdem es inzwischen gelungen war, eine andere verläßlichere Basis für die maßanalytische Bestimmung der Schwefelsäure im Harn zu finden, wurden die Versuche mit Rhodizonsäure aufgegeben.

Kolorimetrie.

Die Erfahrungen mit der Fällung von Bariumrhodizonat bei Gegenwart von Gelatine ließen es möglich erscheinen, Barium in kleinsten Mengen als Bariumrhodizonat kolorimetrisch zu bestimmen. Es wurde eine Serie von Bariumchloridlösungen (mit gestaffeltem Bariumgehalt) mit Gelatinelösung und dergleichen überschüssigen Menge Natriumrhodizonatlösung versetzt und schließlich auf ein Volumen von 10 ccm gebracht. Zunächst sollte am PULFRICH'schen Stufenphotometer der Firma Zeiß die Eichkurve aufgenommen werden, um zu prüfen, ob die Lösungen dem BEER-schen Absorptionsgesetz entsprechen.

Als Vergleichslösung diente eine Lösung, welche die gleichen Mengen Gelatine und Natriumrhodizonat in 10 ccm enthielt wie die Bariumlösungen. Die Gelatinelösung wird durch das Natriumrhodizonat deutlich gelb angefärbt. Diese Färbung tritt auch dann auf, wenn die Natriumrhodizonatlösung durch vorsichtiges Zufügen von 0,01 n-Salzsäure eben entfärbt wurde und dann der Zusatz von Gelatine erfolgte. Das gleiche Verhalten wie die Gelatine zeigt auch Stärkelösung; die auftretende Färbung dürfte mit dem amphoteren Charakter der Kolloide zusammenhängen.

Bei der Prüfung der Lösungen am PULFRICH'schen Stufenphotometer zeigte sich aber, daß die Lösungen durch das durchscheinende Licht verändert werden. Die Durchlässigkeit nimmt ständig zu. Dem Sonnenlicht ausgesetzt, verblassen die Lösungen innerhalb einiger Stunden fast vollkommen. Dadurch ist eine kolorimetrische Bestimmung des Bariums als Rhodizonat ausgeschlossen.

Zusammenfassung.

1. Die Verwendung von Bariumrhodizonat als Indikator für die maßanalytische Bestimmung des Bariums mit Sulfatlösungen scheitert an dem Umstande, daß das Bariumrhodizonat als fast unlösliches Suspensionskolloid vorliegt, somit nur einer langsamen Umsetzung mit der Sulfatlösung fähig ist; außerdem wird das

Bariumrhodizonat, wie schon I. M. KOLTHOFF nachgewiesen hat, durch das ausfallende Bariumsulfat inaktiviert.

2. Das Ergebnis von Titrationen in saurer Lösung ist von der Geschwindigkeit abhängig, mit welcher die Titration durchgeführt wird. Bei Titrationen in neutraler Lösung ist es ausgeschlossen, die Probelösung auf den Farbton einer unmittelbar vorher hergestellten Vergleichslösung zu titrieren, da sich der Farbton der Lösungen rasch ändert.

3. Durch Zusatz von Gelatinelösung zur Bariumchloridlösung gelingt es, die Fällung des Bariumrhodizonates zu verhindern und dieses in kolloider Lösung zu halten. In diesen opaleszierenden, jedoch klar durchsichtigen roten Lösungen wird das Bariumrhodizonat, welches die Eigenschaften eines hydrophilen Kolloides annimmt, durch Zugabe von verdünnter Salzsäure rasch zerstört. Die Titrationen in neutraler Lösung unter Anwendung von Gelatine geben bessere Resultate als ohne Anwendung von Gelatine, doch ist eine genaue Übereinstimmung im Farbton der Vergleichs-Lösung und der Probelösung auch hier nicht zu erreichen.

4. Die Fällung von Barium mit überschüssigem Natriumrhodizonat bei Gegenwart von Gelatine legt die Möglichkeit nahe, Barium in kleinsten Mengen als Bariumrhodizonat kolorimetrisch zu bestimmen. Diese Lösungen sind jedoch gegen Lichteinwirkung nicht beständig. Beim Arbeiten am PULFRICH'schen Stufenphotometer wird eine langsame, aber ständig fortschreitende Zunahme der Lichtdurchlässigkeit beobachtet.

Methodisches zur Mikrobestimmung des Reststickstoffes und des Harnstoffes im Blut.

Von

Friedrich Rappaport.

Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der Universität und dem S.-Canning-Childs-Spital und Forschungsinstitut in Wien.

(Eingelangt am 28. Juli 1933.)

Inhaltsangabe:

I. Versuche über die Anwendbarkeit der Hypobromitmethode zur jodometrischen Bestimmung von Ammoniak.

II. Methode zur Bestimmung des Reststickstoffes mittels Destillation:
   a) im Vollblut und Serum nach Enteiweißung mittels Phosphormolybdänsäure,
   b) im Vollblut und Serum nach Enteiweißung mit Natriumwolframat.
   c) im nichthämolysiertem Vollblut.

III. Bestimmung des Reststickstoffes ohne Destillation.

IV. Methode zur Bestimmung des Harnstoffes:
   a) im Serum und Vollblut,
   b) im nichthämolysiertem Vollblut.

Die Bedeutung der Bestimmung des Reststickstoffes (Rest-N) und seiner Fraktionen für die Klinik ist so bekannt, daß es sich erübrigt, weiter darauf hinzuweisen. Trotzdem ist es auch heute noch für den Kliniker oft schwer, den Rest-N, bezw. seine Fraktionen zu ermitteln, da die gebräuchlichen Methoden Blutmengen erfordern, die besonders bei Reihenuntersuchungen nicht ohne Schwierigkeit dem Kranken zu entnehmen sind. Auch für den Tierversuch sind die Halbmikromethoden nicht anwendbar, da hier erst recht ohne Schädigung des Tieres große Blutmengen nicht entnommen werden können. Die im folgenden — zum Teil

bereits schon kurz mitgeteilten Methoden[1] erlauben es, mit großer Genauigkeit in je 0,1 bis 0,2 ccm Serum oder Vollblut den Rest-N, Harnstoff, bezw. Indican zu bestimmen.

Bestimmung von Ammoniak in reinen Lösungen.

Sowohl bei der Bestimmung des Rest-N wie auch des Harnstoffes wird der Stickstoff als Ammoniakstickstoff bestimmt. Um so kleinen NH_3-Mengen, wie sie aus 0,1 bis 0,2 ccm Serum oder Vollblut freigemacht werden können, genau zu ermitteln, erwiesen sich die gewöhnlichen acidimetrischen Methoden als unzureichend, da schon Spuren von Alkali, die von den Glasgeräten abgegeben werden, die Ergebnisse wesentlich zu beeinträchtigen vermögen. Wir suchten deshalb die Umsetzung zwischen NH_3 und NaOBr für unsere Zwecke zu verwenden, die gemäß $2\,NH_3 + 3\,Br_2 + 6\,NaOH = N_2 + 6\,H_2O - 6\,NaBr$ verläuft. Diese Reaktion wird durch die Alkaliabgabe des Glases nicht beeinflußt, ferner sind zur Erfassung eines NH_3-Moleküls 3 Bromatome notwendig, wodurch auch bei kleinsten NH_3-Werten ein relativ großer NaOBr-Verbrauch erfolgt.

Der Überschuß des zur Oxydation in Form von Hypobromit verwendeten Broms kann nach folgender Gleichung leicht jodometrisch ermittelt werden:

$$NaOBr + NaBr + 2\,HCl = Br_2 + NaCl + H_2O$$
$$Br_2 + 2\,KJ = J_2 + 2\,KBr$$
$$J_2 + 2\,Na_2S_2O_3 = 2\,NaJ + Na_2S_4O_6$$

Die Hypobromitreaktion des Ammoniaks ist schon seit langem bekannt, doch wurde sie relativ selten zu quantitativen Bestimmungen herangezogen, da der Ammoniak nicht immer entsprechend der obigen Gleichung durch das Hypobromit zersetzt wird. Unter gewissen Umständen kommt es sogar zur Bildung von Stickoxyden. Es ist das große Verdienst A. Skrabal's[2], darauf hingewiesen zu haben, daß die Reaktion zwischen Ammoniak und

[1] F. Rappaport, Klin. Wochenschr., **11**, 688 (1932).
F. Rappaport, ebenda, **12**, 1184 (1933).
F. Rappaport und A. Glaser, ebenda, **11**, 814 (1932).

[2] Ztschr. analyt. Chem., **46**, 5 (1907).

Hypobromit von der Alkalität der NaOBr-Lösung abhängig ist, aber auch bei der optimalen Alkalität nur bei einem Überschuß von NaOBr quantitativ im Sinne der oberen Gleichung vor sich geht. Daher ist es nicht gleichgültig, ob man die Ammoniaklösung zum Hypobromit zusetzt oder umgekehrt; denn nur im ersten Falle wird immer ein Überschuß an NaOBr vorhanden sein. Um eine Konstanz der gewünschten Alkalität herzustellen, setzt THEORELL TORSTEN zur NaOBr-Lösung einen Boratpuffer zu. Diese gepufferte Hypobromitlösung eignet sich ausgezeichnet zur quantitativen Erfassung auch kleinster NH_3-Mengen.

Durch Bestimmung bekannter NH_3-Mengen mittels der gepufferten NaOBr-Lösung überzeugten wir uns von dem quantitativen Ablauf der Reaktion. Bei der Herstellung des NaOBr hielten wir uns im wesentlichen an die Vorschrift von THEORELL TORSTEN[3]. Wie aus der Tabelle I ersichtlich ist, stimmen die auf diese Weise ermittelten NH_3-Werte sehr gut mit der Theorie überein.

Analysenvorgang: Zu 10 ccm der unten näher beschriebenen 0,01n-NaOBr-Lösung wurden wechselnde Mengen n/300 $(NH_4)_2SO_4$ zugesetzt. Nach einigen Minuten Stehen wurde nach Zugabe von einigen Körnchen KJ und 2 ccm einer 15%(gewichts)igen HCL der Überschuß an NaOBr durch Titration mit 0,01n-$Na_2S_2O_3$ ermittelt. Die Differenz aus Leerwert minus Vollwert mal 0,0467 ergibt den Stickstoffgehalt der untersuchten Lösung in Milligramm.

Tabelle I.

Es wurden 0,220 g Ammonsulfat, entsprechend 46,7 mg N im Liter H_2O, gelöst und aliquote Teile davon analysiert.

ccm der Ammonsulfatlösung	Leerwert	Vollwert	Differenz	Gefunden mg N	Berechnet mg N
1 ccm	9,95	8,97	0,98	0,0458	0,0467
2 ccm	9,95	7,97	1,98	0,0925	0,0934
3 ccm	9,95	6,96	2,99	0,1396	0,1401
4 ccm	9,95	5,98	3,97	0,1853	0,1868
5 ccm	9,95	4,94	5,01	0,2339	0,2335
6 ccm	9,95	3,97	5,98	0,2792	0,2802
8 ccm	9,95	1,98	7,97	0,3722	0,3736

[3] TH. THORSTEN, Acta med. Scand., 68, 305 (1928).

Bestimmung des Ammoniaks in reinen Lösungen mit Destillation.

Da im Serum und Blut nach der Enteiweißung und üblichen Veraschung neben dem Ammoniak noch andere, das Hypobromit zersetzende Substanzen vorhanden sind, war es zunächst notwendig, den Ammoniak durch Destillation in Freiheit zu setzen, um auf diese Weise eindeutige Werte zu erhalten. Zur Destillation benützten wir den PARNAS-WAGNER'schen Destillationsapparat[1] nach Anbringung einiger Veränderungen (siehe Abb. 1).

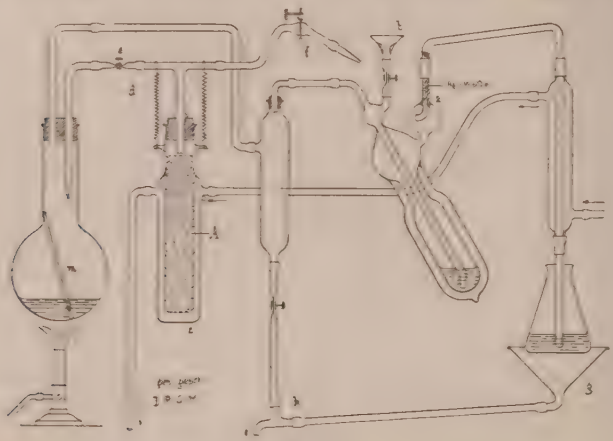


Abb. 1[1a].

Destilliert man so geringe Ammoniakmengen, wie sie in unseren Versuchen in Betracht kommen, so können schon Spuren von H_2S oder anderen Schwefelverbindungen, die von den Schläuchen abgegeben werden, die Bestimmung empfindlich beeinträchtigen. Zur Ausschaltung dieser Fehlerquelle haben wir den ansteigenden Teil (a) des Kühlrohres nach der letzten Schlauchverbindung mit Silberwolle armiert (ähnlich wie es auch PARNAS-HELLER bei ihrer Blut-Ammoniak-Bestimmung empfohlen haben). Durch Bildung von Ag_2S werden die geringsten Spuren von Schwefelwasserstoff abgefangen. Selbstverständlich dürfen für diese Bestimmung keine Metallkühler verwendet werden. Wichtig ist es auch, daß

[1] Biochem. Ztschr., **125**, 253 (1921).

[1a] Der Apparat wird von der Firma P. Haack, Wien, IX., hergestellt.

Kühler und Destillationskolben womöglich abgeschliffen aufeinander aufsitzen.

Aus dieser Abbildung sind noch einige von uns am PARNAS-WAGNER'schen Apparat angebrachten Vorrichtungen ersichtlich.

Zwischen Wasserdampfentwickler und dem Kühler ist ein Glasgefäß (A) eingeschaltet, das nach unten durch eine durchlöcherte Glasplatte oder GOOCH-Tiegelplatte, nach oben durch eine Porzellanfilterplatte abgeschlossen und mit Na-Permutit gefüllt ist. Dieses Gefäß ist von einem Glasmantel (C), der seitlich zwei Ansatzrohre besitzt, umgeben. Das vom Kühler kommende Wasser umspült das Permutitgefäß und fließt dann ab, ohne mit dem Permutit in Berührung zu kommen. Beide Gefäße sind nach oben durch einen durchbohrten Gummistopfen, in dem sich ein T-Rohr befindet, abgeschlossen. Ein Schenkel des T-Rohres (d) steht mit dem Wasserdampfentwickler in Verbindung, wobei der Wasserfluß in den Dampfentwickler durch eine Klemme reguliert wird; durch diese Vorrichtung wird eine Konstanz des Wasserspiegels im Dampfentwickler erreicht. Der zweite Schenkel des T-Rohres (f) wird zum Waschen der Veraschungskölbchen benützt. Das zum Waschen, bezw. Nachfüllen des Wasserdampfentwicklers verwendete Wasser muß das Permutitgefäß (A) passieren und wird dadurch absolut ammoniakfrei. Wir konnten uns in einer Reihe von Versuchen beim Durchleiten von ammonsalzhaltigem Wasser davon überzeugen, daß der gesamte Ammoniak bei dieser Anordnung vom Permutit abgefangen wird. Durch zahlreiche Untersuchungen konnten wir auch feststellen, daß das Permutit auch nach langem Gebrauch (6 Monate) imstande ist, beim Durchleiten einer Ammonsulfatlösung das NH_3 quantitativ zu binden. Diese Vorrichtung gestattet, jedes Leitungswasser für oben beschriebene Zwecke ohne Bedenken zu benützen. Um das Ansiedeln und Wachstum von Algen im mit Ammoniak angereicherten Permutit, bezw. an den Wänden des Wassermantels zu verhindern, setzten wir dem Permutit etwas Silberwolle zu (oligodynamische Wirkung des Silbers). Zum Abfangen des beim Durchdampfen des Apparats aus dem Destillierrohr abtropfenden Wassers dient ein Trichter (g), der mit dem Sammelrezipienten eine gemeinsame Ablaufvorrichtung in die Wasserleitungsmuschel besitzt. Der Trichter (b) besitzt einige eingedrückte Kerben, die beim Überführen der Probe aus dem Veraschungskölbchen in den Destillierkolben ein Übergehen der bei der Veraschung als Siedeverzug dienenden Glasperlen verhindern. Durch diese Vorrichtung wird das Verstopfen des Trichters vermieden. Als Siedeverzug im Dampfentwickler verwendeten wir nach der Vorschrift FOLIN und SVEDERBERG[5] ein in der Mitte und an einem Ende zugeschmolzenes Glasrohr (m), das in den Dampfentwickler mit dem offenen Ende nach unten eingebracht ist. Die Vorteile der beschriebenen Vorrichtungen machen sich besonders bei Reihenuntersuchungen geltend (Vermeidung des Nachfüllens des Wasserdampfentwicklers und des damit verbundenen Zeitverlustes, Reinhaltung und Schonung des Arbeitsplatzes, Beschaffung eines absolut ammoniakfreien Wassers).

[5] Journal ob biological Chem., 88, 77 (1929).

Zur Überprüfung des Hypobromitverfahrens zur Bestimmung von abdestilliertem Ammoniak brachten wir in den oben beschriebenen, modifizierten PARNAS WAGNER'schen Mikro-KJELDAHL-Apparat gemessene Mengen einer gestellten Ammonsulfatlösung ein und destillierten nach Zusatz von KOH den in Freiheit gesetzten Ammoniak über. In Anlehnung an die früher zitierten Arbeiten SKRABAL's verwandten wir als Vorlage zum Abfangen des Ammoniaks verdünnte Salzsäure. Am Ende der Destillation wurde der Überschuß an HCl mit NaOH gegen eine genau gemessene Menge Methylrot als Indikator neutralisiert. Auf diese Weise erhielten wir eine neutrale Ammonsulfatlösung, die wir in eine gemessene Menge der gepufferten Hypobromitlösung einbrachten. Wie aus Tabelle II ersichtlich ist, stimmen die auf diese Weise ermittelten Stickstoffwerte mit den berechneten sehr gut überein.

Tabelle II.

Es wurden 0,2342 Ammonsulfat eingewogen, entsprechend 49,37 mg N im Liter.

$(NH_4)_2SO_4$-Lösung in ccm	Leerwert	Vollwert	Differenz	Gefunden mg N	Berechnet mg N
1 ccm	9,85	8,81	1,04	0,0485	0,0493
3 ccm	9,85	6,70	3,15	0,1471	0,1481
5 ccm	9,85	4,60	5,25	0,2461	0,2466
8 ccm	9,85	1,45	8,40	0,3922	0,3949

Dieser Arbeitsgang erwies sich aber als zu umständlich. Im Verlaufe der weiteren Arbeiten gingen wir so vor, daß wir das freigewordene Ammoniak direkt in einer genau gemessenen Hypobromitlösung abfingen, wodurch wir auch der Forderung SKRABAL's nach einem Hypobromitüberschuß entsprachen. Wie aus Tabelle III ersichtlich ist, waren die auf diese Weise ermittelten Stickstoffwerte gleich den von der Theorie verlangten.

Tabelle III.

Einwage 0,2145 g Ammonsulfat, entsprechend 45,2 g N pro Liter.

$(NH_4)_2SO_4$-Lösung in ccm	Leerwert	Vollwert	Differenz	Gefunden mg N	Berechnet mg N
2 ccm	10,14	8,24	1,90	0,0887	0,0904
4 ccm	10,14	6,32	3,82	0,1784	0,1808
6 ccm	10,14	4,40	5,74	0,2680	0,2712
8 ccm	10,14	2,51	7,63	0,3563	0,3616

Bereitung der Hypobromitlösung: Die ersten Lösungen stellten wir wie folgt dar: a) Pufferlösung: 84,5 g Borsäure und 14,6 g Natronlauge in Substanz werden in 800 ccm Wasser gelöst, ½ Stunde gekocht (zwecks Vertreibung des Ammoniaks) und nach dem Erkalten auf 1 Liter aufgefüllt: b) in einem 500-ccm-Meßkolben, in welchem sich 15 ccm einer 0,1n-Phosphorsäure und 200 ccm Wasser befinden, kommen 0,13 ccm säurefreies Brom und werden bis zur Lösung geschüttelt. Unter weiterer Kühlung werden 200 ccm der Pufferlösung a und 20 ccm 0,1n-NaOH zugesetzt und auf 100 aufgefüllt. Das Reagens ist sofort gebrauchsfähig und ist, kühl und dunkel aufbewahrt, einige Zeit haltbar. Bei längerem Stehen kommt es zu einer Umlagerung des Hypobromits, wobei sich neben $NaOBr$ $NaBrO_3$ und NaBr bildet (siehe Reaktionsgleichung).

$$3\,NaOBr = 2\,NaBr + NaBrO_3.$$

Der Titer dieser Hypobromitlösung nach Zusatz von Jodkalium und Salzsäure ist, wie aus der Reaktionsgleichung ersichtlich, gegen Thiosulfat auch nach der Umlagerung unverändert. Die Reaktionsfähigkeit gegen Ammoniak nimmt jedoch wegen Bildung von in alkalischer Lösung nicht reaktionsfähigem $NaBrO_3$ ab. Um die Menge des reaktionsfähigen NaOBr (als Maß der Eignung einer Lösung zur Ammoniakerfassung) zu bestimmen, bedienten wir uns folgenden Verfahrens:

Zu 10 ccm der zu prüfenden 0,01n-Hypobromitlösung wurden 15 ccm etwa n/300 Ammonsulfat zugesetzt und 5 Minuten stehengelassen; hierauf Jodkalium und Salzsäure zugesetzt und mit 0,01n-Thiosulfat mit Stärke als Indikator das frei gewordene Jod auf farblos titriert. Gleichzeitig wird der blanke Natriumthiosulfattiter der Hypobromitlösung bestimmt (Leerwert). Da Ammonsulfat im Überschuß dem Hypobromit zugesetzt wurde, gibt die Differenz aus Leerwert und Vollwert die Menge für die zur Zerstörung des Ammoniaks aktiven NaOBr wieder.

Beispiel: 0.01n-Thiosulfatverbrauch von 10 ccm der fraglichen Hypobromitlösung nach KJ- und Säurezusatz . 10,15 ccm
detto. nach Zusatz von 15 ccm n/300-Ammonsulfatlösung . . . . . 4,0 „
Differenz . . . . . 6,15 ccm

Daraus ergibt sich, daß in diesem Falle nur Ammoniakwerte zwischen 0 und 6 ccm verwertet werden können, weil die 10 ccm der Hypobromitlösung in der Wirklichkeit nur 6 ccm 0.01n-NaOBr enthalten — und die übrigen 4 ccm entfallen auf das $NaBrO_3$. Liegen die ermittelten NH_3-Werte um 6 ccm herum, so muß der Versuch bei Vorlage entsprechend größerer NaOBr-Mengen wiederholt werden.

Diese Art der Herstellung der NaOBr-Lösung und ihre Einstellung haben wir in unserer ersten Mitteilung in der Klinischen Wochenschrift angegeben. Späterhin gelang es uns, eine konzentrierte Stammlösung herzustellen, aus der man jederzeit eine Hypobromitlösung von konstanter NH_3-Aktivität herstellen kann, und zwar durch Lösung von elementarem Brom in einer sauren Natriumbromidlösung, wobei Polybromid entsteht.

Als Ausgangslösung verwandten wir eine 0.1n-Bromlösung, die wir unmittelbar vor dem Versuche in eine 0.01 oder 0.005n-Hypobromitlösung umwandelten.

Arbeitsgang: Zur Herstellung der Bromlösung sind zwei Möglichkeiten gegeben:

a) 20 g KBr werden in einem 1-Liter-Meßkolben in etwas Wasser und 100 ccm 1n-H_2SO_4 gelöst, dann werden 8 g Brom (2.5 ccm) zugesetzt und mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. In einer dunklen Flasche kühl aufbewahrt, ist die Lösung lange Zeit haltbar.

b) In einem 1 Liter-Meßkolben werden 32 g KBr und 2.8 g $KBrO_3$ in etwas Wasser gelöst, 200 ccm 1n-H_2SO_4 zugefügt und nach zirka 30 Minuten mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Die Endacidität ist bei a) und b) dieselbe, da in letzterem Falle 100 ccm H_2SO_4 zur Überführung der Bromatlösung in Brom notwendig sind. Vor dem Versuch wird zu 10 ccm der Bromlösung so lange unter Wasserkühlung 1n-NaOH zugesetzt, bis der Farbumschlag von Braun in Zitronengelb eintritt. Dann werden 40 ccm der Boratpufferlösung (Bereitung siehe früher) zugesetzt und mit Wasser auf 100 aufgefüllt. Diese Lösung soll vor jedem Versuch frisch bereitet werden. In einer großen Reihe von Versuchen, die sich über lange Zeit erstrecken, konnten wir uns von der Konstanz dieses Reagens (siehe Tabelle IV) überzeugen. Es zeigte sich dabei, daß der Wirkungswert gegen Ammoniak konstant

bleibt. Nach längerer Zeit kann es infolge Flüchtigkeit von Brom zu einer Abnahme des Natriumthiosulfattiters kommen. Das Verhältnis des BrO_3 zu BrO bleibt jedoch praktisch immer konstant.

Tabelle IV.

Datum	Leerwert KJ + HCl in ccm n/100-$Na_2S_2O_3$	Thiosulfatverbrauch nach Zusatz von 15 ccm n/300-Ammonsulfat
15. VIII. 1932	10,23	0,53
4. VIII. 1932	10,15	0,53
4. IX. 1932	10,15	0,53
16. IX. 1932	10,15	0,55
25. IX. 1932	10,15	0,50
3. XI. 1932	10,00	0,49
3. XII. 1932	9,60	0,47

Auch diese Lösung eignet sich, wie die Tabellen V und VI zeigen, zur Ammoniakbestimmung sowohl in direktem Versuch als auch durch Destillation.

Tabelle V.

Einwage 0,2353 Ammonsulfat, entsprechend 49,58 mg N pro Liter, Stickstoffbestimmung mit der neuen Bromkalilösung im direkten Versuch.

$(NH_4)_2SO_4$-Lösung in ccm	Leerwert	Vollwert	Differenz	Gefunden mg N	Berechnet mg N
1 ccm	9,98	8,94	1,04	0,048	0,049
2 ccm	9,98	7,88	2,10	0,098	0,099
3 ccm	9,98	6,83	3,15	0,147	0,148
5 ccm	9,98	4,70	5,28	0,246	0,248
8 ccm	9,98	1,70	8,28	0,387	0,396

Tabelle VI.

Einwage 0,2283 g Ammonsulfat, entsprechend 48.1 mg N pro Liter, Stickstoffbestimmung mit der neuen Bromkalilösung im indirekten Versuch durch Destillation.

$(NH_4)_2SO_4$-Lösung in ccm	Leerwert	Vollwert	Differenz	Gefunden mg N	Berechnet mg N
1 ccm	10,03	9,01	1,02	0,048	0,048
2 ccm	10,03	7,99	2,04	0,095	0,096
5 ccm	10,03	4,98	5,05	0,236	0,240
8 ccm	10,03	1,83	8,20	0,382	0,384

Methode zur Bestimmung des Reststickstoffes mittels Destillation.

Nach den durchaus befriedigenden Vorversuchen benützten wir das Verfahren zur Bestimmung des Rest-N im Serum und Vollblut.

Rest N im Serum und hämolysiertem Vollblut: Im Gegensatz zu den bisher gebräuchlichen Methoden gestattet unsere Anordnung, den Rest-N Stickstoff mit derselben Genauigkeit sowohl im Serum wie im Vollblut zu bestimmen. Enteiweißt man Vollblut mit Trichloressigsäure, Natriumwolframat oder anderen Fällungsmitteln in wässeriger Lösung, so stehen die auf diese Weise ermittelten Werte bekanntlich in keiner Übereinstimmung mit den Serumwerten[6]. Hämolysiert man Vollblut dagegen mit einer hypertonischen schwefelsauren Natriumsulfatlösung und enteiweißt das jetzt so hämolysierte Blut mit einem der unten angegebenen Reagenzien, so enthält man Werte, wie sie Tabelle VII und VIII zeigen, die den Serumwerten gleich sind.

Reagenzien: 1. 20 g wasserfreies Na_2SO_4 werden in einem 1000 ccm Meßkolben gelöst und nach Zusatz von 69 ccm 2·3n-H_2SO_4 bis zur Marke mit dest. Wasser aufgefüllt. 2. Phosphormolybdänsäure (im wesentlichen nach Bang), 5 g wasserfreies Na_2SO_4 und 8·3 g Phosphormolybdänsäure werden in 200 ccm Wasser gelöst, 20 ccm 5n NaOH zugesetzt und eine halbe Stunde gekocht. Nach dem Erkalten gibt man 10·6 ccm konz. H_2SO_4 dazu und füllt auf einen Liter auf. 3. Kupfersulfat-Schwefelsäure-Mischung: 10 g $CuSO_4$ werden in 500 ccm Wasser gelöst und zu dieser Lösung vorsichtig 500 ccm konz. H_2SO_4 zugesetzt. 4. Kjeldahl-Lauge (am besten hergestellt durch Auflösen von 33 g reinster KOH in Wasser und nachheriges Auffüllen auf 100 ccm). 5. Natriumhypobromit (siehe S. 8). 6. Kaliumjodid. 7. Rauchende HCl zu gleichen Teilen mit Wasser verdünnt. 8. 1%ige Stärkelösung. 9. 0·01n $Na_2S_2O_3$. Zur Herstellung der Lösungen dürfen nur analysenreine Reagenzien verwendet werden.

Die in der Klinischen Wochenschrift angegebene starksaure Sulfatlösung eignet sich nur dann, wenn man Phosphormolybdänsäure als Enteiweißungsmittel verwendet, während die hier an-

[6] Näheres siehe F. Silberstein, F. Rappaport und M. Wachstein: Untersuchungen über den intermediären Eiweißstoffwechsel. Biochem. Ztschr., 213, 312 und 340 (1929).

gegebene Natriumsulfatlösung sich auch zur Enteiweißung mit Natriumwolframat eignet (siehe weiter unten).

Methodik: Ebenso viele Reagenzgläser, als man Proben ansetzen will, werden mit 5,8 ccm der Natriumsulfatlösung (1.) beschickt. Mit einer Kapillarpipette werden 0,2 ccm Blut aus der Fingerbeere entnommen und der Inhalt nach Reinigung von dem außen anhaftenden Blut in die Sulfatlösung geblasen. Man wäscht die Pipette zweimal durch Aufziehen und Zurückblasen. 2 ccm der Phosphormolybdänsäure (2.) werden unmittelbar nachher zugesetzt und gut durchgemischt. Die mit Blut beschickten Röhrchen werden ebenso wie 2 bis 3 Röhrchen, die als Kontrollen mit 6 ccm Natriumsulfat (1.) und der Phosphormolybdänsäure (2.) beschickt wurden, auf 4 bis 5 Minuten in ein auf etwa 45° eingestelltes Wasserbad gestellt. Es wurden Vollpipetten mit 2 Marken bei 5,8 ccm und 6 ccm verwendet. Nach dem Erkalten wird durch ein qualitatives Filter der Firma Schleicher & Schüll, Nr. 595 oder 597 (D = 7 cm), filtriert. 6 ccm des Filtrates kommen in einen Mikro-KJELDAHL-Kolben und werden nach Zusatz von 1,5 ccm der Kupfersulfat-Schwefelsäure-Lösung (4.) und einigen Glasperlen als Siedeverzug verascht. Nach dem Erkalten wird der Inhalt des Kolbens mit etwas Wasser verdünnt und in den Destillationsapparat übergeführt. Nach Zusatz von 5 ccm KJELDAHL-Lauge wird mit etwas Wasser nachgewaschen und zweimal 3 Minuten destilliert. Es ist darauf zu achten, daß während der ersten drei Minuten das vom Kühler kommende Rohr gut in die Vorlage eintaucht. Vorgelegt werden immer 10 ccm der Natriumhypobromitlösung.

Titration: Nach der Destillation fügt man zu jeder Probe ein Körnchen Kaliumjodid und 2 bis 3 ccm der Salzsäure (7.) zu und titriert mit Natriumthiosulfat bis strohgelb und nach Zusatz von einigen Tropfen Stärke bis farblos.

Berechnung: Die Differenz aus Leerwert weniger Vollwert multipliziert mit 0,0467 (0,14 : 3) ergibt den Stickstoffgehalt in mg der untersuchten Probe bei Verwendung von 0,01n-$Na_2S_2O_3$. Bei Umrechnung auf mg% in 0,2 ccm Untersuchungsmaterial wird diese Differenz mit 31,1 multipliziert. Bei Verwendung von 0,1 Ausgangsmaterial (5,9 ccm Enteiweißungslösung [1.]) mit 62,2.

Der Faktor ergibt sich aus der Gleichung:

$$\frac{(L - V) \times 0{,}0467 \times 1000}{0.15}, \text{ bezw. } \frac{(L - V) \times 0{,}0467 \times 1000}{0{,}075},$$

da nur 6 ccm des Filtrates, entsprechend 0,15, bezw. 0,075 der Ausgangslösung, zur Analyse kamen.

Tabelle VII.

Fall Nr.	Serum Mikro mg%	Serum Halbmikro mg%
1	37,3	39,2
2	23,3	25,2
3	25,0	24,8
4	35,7	34,3
5	32,9	31,1
6	22,5	23,1
7	221,1	223,0

Tabelle VIII.

Fall Nr.	Vollblut Mikro mg%	Serum Halbmikro mg%
1	34,2	35,0
2	56,2	56,7
3	33,0	32,0
4	126,6	126,8
5	34,5	32,2
6	41,33	40,11
7	164,2	168,5

Wie die Tabellen VII und VIII zeigen, stehen die nach dieser Methode ermittelten Werte in guter Übereinstimmung mit den Serumwerten, die nach dieser oder nach einer der gebräuchlichen Halbmikromethoden ermittelt wurden.

Will man mit Natriumwolframat enteiweißen, so kann man als Hämolysierungsflüssigkeit die obenangegebene Natriumsulfatlösung benützen. Diese entspricht der Anforderung Folin-Wus', daß zur Enteiweißung 1 Teil 2/3n-Schwefelsäure auf 1 Teil 10%iges Natriumwolframat zu verwenden sind. Nach unserer Vorschrift bereitete Natriumsulfatlösung enthält in 5,8 ccm 0,4 ccm 2/3n-H_2SO_4. Wir verwenden daher zur Enteiweißung 2 ccm 2%iges Natriumwolframat (entsprechend 0,4 ccm einer 10%igen Lösung).

Tabelle IX gibt Beleganalysen für die Gleichwertigkeit der Enteiweißungsmittel.

Tabelle IX.

Fall Nr.	Vollblut Mikro nach der Wo.-Methode	Vollblut Mikro nach der Phosphor-Mo.-Meth.	Serum Halbmikro
1	38,2 mg%	38,0 mg%	37,6 mg%
2	38,4 „	28,0 „	28,1 „
3	26,12 „	26,25 „	25,7 „
4	54,4 „	54,9 „	52,3 „
5	128,2 „	128,5 „	130,0 „
6	201,5 „	202,0 „	198,0 „

Bestimmung des Rest-N im nicht hämolysierten Vollblut.

O. Folin und A. Svedberg[7] geben eine Enteiweißung an, bei der die Erytrocyten nicht angegriffen werden. Wir haben seine Vorschrift zur Bestimmung des Reststickstoffes im Blute auch auf unsere Mikromethode angewandt und fanden, daß die nach unserer Mikromethode ermittelten RN-Werte mit denen nach der Folin'schen Halbmikromethode, wie Tabelle X zeigt, gut übereinstimmen. Vergleicht man jedoch die im nicht hämolysierten Blut gefundenen RN-Werte mit den im Serum gewonnenen, so findet man häufig Differenzen, die über die Fehlerbreite der Methode weit hinausgehen. Es macht dabei keinen Unterschied, ob die Analysen nach unserer Mikromethode ausgeführt werden oder nach dem üblichen Halbmikroverfahren. Ob für klinische Untersuchungen die Werte im nicht hämolysierten Vollblut oder die im Serum gefundenen aufschlußreicher sind, sei dahingestellt.

Reagenzien:

1. Enteiweißungsreagens.

a) 15 g wasserfreies Natriumsulfat werden in einem 1-Liter-Meßkolben in etwas Wasser gelöst; nach der Lösung fügt man 20,7 ccm 10%iges Natriumwolframat hinzu und füllt bis zur Marke auf.

b) 1,5 g Natriumsulfat werden in einem 200-ccm-Meßkolben

[7] l. c.

unter Zufügung von 12 ccm 2·3n-H_2SO_4 gelöst, nach erfolgter Lösung der Inhalt des Kolbens bis zur Marke aufgefüllt.

Die Veraschungs- und Titrationsreagenzien siehe Seite 84.

Methodik: 5,8 ccm der Lösung 1a werden in ein Röhrchen eingefüllt, 0,2 ccm Vollblut sorgfältig aus einer Kapillarpipette einfließen gelassen und nach 15 Minuten langem Stehen werden 2 ccm der Lösung b) (Schwefelsäure) vorsichtig und unter Umschütteln zugesetzt und scharf abzentrifugiert. Die überstehende klare Flüssigkeit wird vorsichtig abgehoben und zur Sicherheit durch ein Filter (Schleicher & Schüll, 597, D = 7 cm) filtriert. Der weitere Analysengang deckt sich mit dem im Serum, bezw. hämolysierten Vollblut angegebenen (siehe S. 11).

Tabelle X.

Fall Nr.	Rest-N im Vollblut nach der Mikromethode	Rest-N im Vollblut nach der Halbmikromethode von FOLIN[8]
1	68 mg%	71 mg%
2	118 „	120 „
3	31 „	29 „
4	106 „	109 „
5	156 „	159 „
6	18 „	19 „

Wie die Tabelle X zeigt, stimmen die nach den beiden Methoden erhaltenen Rest-N-Werte vollkommen überein.

Bei sachgemäßer Wartung der Reagenzien erübrigt es sich zumindest für klinische Untersuchungen, zu jeder Bestimmungsreihe einen Leerwert zu verarbeiten. Es zeigte sich nämlich (siehe Tabelle XI), daß die Differenz aus dem Thiosulfatverbrauch des destillierten Leerwertes und dem Thiosulfattiter der Natriumhypobromitlösung auch bei Verwendung verschiedener und verschieden großer Hypobromitmengen immer konstant bleibt; somit genügt es, einmal diesen Reagenzfaktor zu bestimmen und ihn bei jeder Bestimmung in Rechnung zu ziehen.

[8] Die Proben wurden nach der Vorschrift von FOLIN (l. cit.) enteiweißt und nach den üblichen Halbmikromethoden bestimmt.

Tabelle XI.

Datum	Hypobromitleerwert ohne Destillation	Hypobromitleerwert nach den verascht. Reagenzien	Differenz
1. X. 1932	4,38	4,06	0,32
5. X. 1932	5,30	4,98	0,32
9. X. 1932	8,90	8,60	0,30
15. X. 1932	8,95	8,62	0,33
20. X. 1932	5,50	5,15	0,35
30. X. 1932	10,05	9,70	0,35

Bestimmung des Reststickstoffes ohne Destillation.

Im weiteren Verlaufe dieser Arbeit gelang es, die Mikro-Reststickstoffbestimmung so zu gestalten, daß die Destillation umgangen werden konnte. Die wenigen Arbeiten über die Bestimmung von Stickstoff ohne Destillation[9] ergaben keine befriedigenden Resultate und konnten sich auch nicht durchsetzen. Die Schwierigkeiten für die Ausarbeitung von Verfahren zur NH_3-Bestimmung ohne Destillation bestehen vor allem darin, daß nach erfolgter Überführung des organisch gebundenen Stickstoffs in Ammonsalz das hierzu verwendete Oxydationsmittel vollständig zerstört werden muß, wenn eine jodometrische NH_3-Bestimmung angeschlossen werden soll. Die für den N-Aufschluß bisher gebräuchlichen Oxydationsmittel waren:

Wasserstoffsuperoxyd, Kaliumpersulfat, Überchlorsäure, Cerisulfat sowie

Kupfersulfat, Quecksilber und seine Salze.

A. Friedrich[10] hat darauf hingewiesen, daß Wasserstoffsuperoxyd bei jodometrischen Methoden nicht angewendet werden darf, da bei der Veraschung wohl Wasserstoffsuperoxyd durch die konzentrierte Schwefelsäure zerstört wird, hierbei aber teilweise Bildung von Persäuren erfolgt. Beim Verdünnen und Alkalisieren des Veraschungsrückstandes kommt es zu einer Rückbildung von

[9] l. c.

[10] Die Praxis der praktischen Mikroanalyse, S. 84. Verlag Deuticke, 1933.

Wasserstoffsuperoxyd, der sogar beim Destillieren in die Vorlage übergeht. Die Folge davon ist, daß die so ermittelten Werte unzuverlässig sind.

Will man, wie dies Theorell Torsten tat, das Wasserstoffsuperoxyd durch ein Reduktionsmittel unwirksam machen, so wird der Fehler durch das zurückbleibende Reduktionsmittel nicht wettgemacht. Die übrigen erwähnten Oxydationsmittel sind deshalb unbrauchbar, weil sie ungleichmäßig Jod entbinden oder verbrauchen.

Handelt es sich im speziellen Falle um die Bestimmung des Nichteiweiß-Stickstoffes, so kommt noch die Schwierigkeit des Ausschaltens des Enteiweißungsmittels hinzu.

Enteiweißt man nach der von uns beschriebenen Methode mit Phosphormolybdänsäure, so liegt eine Schwierigkeit darin, daß diese Verbindung leicht durch Jodkalium zu niederen Molybdänoxyden reduziert wird. Setzt man jedoch der Phosphormolybdänsäure etwas Fluornatrium hinzu, so kommt es zur Bildung von komplexen Fluormolybdaten, etwa von der Formel $Na_2(MoF_5)$, die im Gegensatze zur freien Phosphormolybdänsäure nicht imstande sind, aus Jodkali Jod in Freiheit zu setzen. Die Verwendung von Phosphormolybdänsäure hat, wie gefunden wurde, noch den Vorteil, daß dadurch der Aufschluß, bezw. die Überführung des organisch gebundenen Stickstoffs in Ammonsalz katalytisch beschleunigt wird.

Enteiweißt man Blut (Serum) mit Natriumwolframat und verascht das Filtrat mit konz. Schwefelsäure, so kommt es zur Bildung von unlöslichem gelben Wolframoxyd und Stoßen der Flüssigkeit, so daß die Veraschung nicht zu Ende geführt werden kann. Es wurde nun gefunden, daß auf Zusatz von Titansalzen ein vollkommener Aufschluß unter Klarwerden der Lösung erzielt werden kann. Möglicherweise beruht dieser Effekt auf der Bildung einer wasserlöslichen Heteropolysäure zwischen Wolframsäure und der amphoteren Titansäure. Eine Abscheidung von Wolframoxyd oder basischen Titansalzen kann durch Zugabe von Alkalifluorid (Bildung komplexer löslicher Fluoride) verhindert werden.

Arbeitsvorgang:

Reagenzien:

1. Enteiweißungsreagenzien wurden schon oben beschrieben (siehe Seite 10).

2. Veraschungsreagenzien:

a) bei Enteiweißung mit Phosphormolybdänsäure: 1 g PMS wird in zirka 50 ccm Wasser gelöst. Nach Zusatz von 1 ccm 27%iger NaOH wird zirka 20 Minuten zur Vertreibung des eventuell vorhandenen Ammoniaks gekocht und nach dem Erkalten werden 35 ccm konz. Schwefelsäure zugesetzt und die Lösung auf 100 ccm aufgefüllt;

b) bei Enteiweißung mit Natriumwolframat: 1 g Titanhydroxyd wird in zirka 50 ccm Wasser suspendiert, 1 ccm KJELDAHL-Lauge zugesetzt und so lange unter Ersatz des verdampfenden Wassers gekocht, bis die aufsteigenden Dämpfe rotes Lakmuspapier nicht mehr bläuen (als Siedeverzug werden Glasperlen verwendet).

3. Reagenzien zur Neutralisation:

a) konz. NaOH, hergestellt durch Auflösen von 27 g NaOH p. A. in 100 ccm.

b) 15 mg Methylrot (KAHLBAUM) werden in 10 ccm 1n-NaOH gelöst und die Lösung mit Wasser auf 1000 aufgefüllt.

c) 10%iges Natriumfluorid.

Eine gebrauchsfertige Lösung wird hergestellt durch Mischen von drei Teilen der Lösung a) mit einem halben Teil der Lösung b) und eineinhalb Teilen der Lösung c). Diese Mischung sowie alle oben beschriebenen Reagenzien sind unbegrenzt haltbar.

4. Reagenzien zur Titration: Sind dieselben wie auf Seite 10 beschrieben, nur wird das Hypobromit in konzentrierter Lösung verwendet, und zwar n/50 normal. Sie wird wie folgt bereitet:

20 ccm der Bromlösung (siehe Seite 83) werden mit NaOH so lange unter Wasserkühlung versetzt, bis der Farbumschlag von Braun ins Zitronengelb eintritt. Dann werden 30 ccm Boratpufferlösung zugesetzt und mit Wasser auf 50 aufgefüllt.

Ausführung der Bestimmung: Ebenso viele Reagenzgläser, als man Proben ansetzen will, werden mit 5,8 ccm der Natriumsulfatlösung (Seite 84) beschickt, mit einer Kapillarpipette werden 0,2 ccm Blut aus der Fingerbeere oder Serum entnommen und der Inhalt nach Reinigung von dem außen anhaftenden Blut in die Sulfatlösung geblasen[11]. Man wäscht die Pipette durch mehrmaliges Aufziehen und Zurückblasen der Natriumsulfatlösung. Unmittelbar darauf werden 2 ccm der obenbeschriebenen Enteiweißungsphosphormolybdänsäure oder 2 ccm der 2%igen Natriumwolframatlösung zugesetzt, gut durchgemischt und auf 4 bis 5 Minuten in ein auf zirka 45° eingestelltes Wasserbad gestellt. In gleicher Weise werden zwei bis drei Blindversuche angestellt. Nach dem Erkalten wird durch ein Rundfilter (Schleicher & Schüll, Nr. 597, D = 7 cm) filtriert; 6 ccm des Filtrates und einige Glasperlen kommen in ein Mikro-KJELDAHL-Kölbchen. Wurde Phosphormolybdänsäure zur Enteiweißung verwendet, so gibt man 2 ccm der Phosphormolybdänschwefelsäure 2a), andernfalls verascht man nach Zusatz von 2 ccm Titanreagens (2b). Die Veraschung ist im Falle der Verwendung von Phosphormolybdänsäure als Katalysator vollendet, wenn die Blaufärbung, die während der Veraschung auftritt, verschwunden ist. Bei Benützung von Titanschwefelsäure ist die Veraschung vollendet, wenn keine H_2SO_4-Dämpfe mehr entweichen. Die Schwefelsäure ist bei Verwendung von Titan in der Hitze durch die Bildung von Titanwolframat dunkelbraun gefärbt. Die Braunfärbung verschwindet jedoch in der Kälte und die Lösung erscheint dann farblos. Nach dem Veraschen und dem Erkalten wird der Rückstand mit 2 bis 3 ccm Wasser verdünnt und nach dem abermaligen Erkalten unter Wasserkühlung mit 5 ccm des Methylrot-KOH-NaF-Gemisches versetzt (die Lösung muß noch immer sauer sein, anderenfalls muß die konz. Natronlauge etwas verdünnt werden (3a). Die noch schwach saure Lösung wird dann tropfenweise mit konz. NaOH

[11] Stehen größere Serummengen zur Verfügung, so werden 0,4 ccm des Serums in eine Eprouvette einpipettiert, die vorher mit 11,6 ccm Na_2SO_4 beschickt wurde (wir verwenden dazu Vollpipetten mit Marke bei 11,6 ccm). Enteiweißt wird mit 4 ccm der Phosphormolybdänsäure- oder Natriumsulfatlösung. Nach dem Filtrieren werden je 6 ccm des Filtrates in Veraschungskölbchen überführt und wie oben weiterbehandelt.

bis zum Umschlag in Braun-Gelb neutralisiert. (Für alle Kölbchen einer Versuchsreihe wird annähernd die gleiche Tropfenzahl benötigt.) Der so neutralisierte Veraschungsrückstand wird quantitativ in ein HAGEDORN-JENSEN-Röhrchen übergeführt, das mit 5 ccm der gepufferten Hypobromitlösung beschickt ist. (Das übliche Einfetten des Kolbenrandes muß vermieden werden.) Es werden zunächst alle Kölbchen der Versuchsreihe in die HAGEDORN-JENSEN-Eprouvetten überführt und dann nacheinander nach Zusatz von etwas Jodkali und Salzsäure (wie oben) mit 0,01n-Thiosulfat bis strohgelb und nach Zusatz von 2 bis 3 Tropfen Stärke auf farblos titriert.

Berechnung: Der Berechnungsfaktor bleibt wie bei der Destillationsmethode derselbe. Der Leerwert minus Vollwert, multipliziert mit 31,1, ergibt den Reststickstoffgehalt in Milligrammprozenten.

Wie Tabelle XII zeigt, stehen die nach dieser Methode ermittelten Werte in guter Übereinstimmung mit den mittels der Destillation gefundenen.

Selbstverständlich lassen sich nach dieser Methode auch Reststickstoffbestimmungen im nichthämolysiertem Blut (siehe S. 13) bei Verwendung von Titansulfat als Katalysator ausführen.

Tabelle XII.

Nr.	Blut-Mikrorestwerte in mg%	
	mit Destillation	ohne Destillation
1	22,08	21,77
2	24,8	25,66
3	31,1	31,1
4	54,4	56,3
5	99,42	99,42
6	201,5	202,4
7	221,1	225,0

Methode zur Bestimmung des Harnstoffes[12].

Nachdem es gelungen war, mittels der Hypobromitmethode nicht nur kleine Mengen Ammoniak quantitativ zu erfassen, sondern

[12] Herrn Dr. A. GLASER danke ich auch hier für die Hilfe bei der Durchführung der nachfolgenden Untersuchungen.

auch den Reststickstoff zu bestimmen, versuchten wir nach dem gleichen Prinzip den Harnstoff-Stickstoff zu ermitteln. Wohl ist es möglich, gasanalytisch den Harnstoff in eiweißfreien Blutfiltraten zu bestimmen, doch scheitert die direkte titrimetrische Methode daran, daß sich im eiweißfreien Blutfiltrat neben Harnstoff noch zahlreiche andere Stoffe, wie Peptone, Dextrose, Milchsäure usw., vorfinden, die das Hypobromit reduzieren.

Daher mußte vorerst der Harnstoff enzymatisch durch Urease in Ammoniak umgewandelt und das gebildete Ammoniak durch Alkalien im Parnas Wagner Apparat (siehe Abb. 1) in Freiheit gesetzt werden. Überführt man das eiweißfreie Filtrat, dessen Harnstoff durch Urease in Ammoniak umgewandelt wurde, in den Parnas Wagner'schen Apparat, so beginnt die Urease bei der Destillation derart zu schäumen, daß der ganze Versuch abgebrochen werden muß. Um das störende Schäumen zu verhindern, muß die Urease vor der Enteiweißung dem Blute, bezw. Serum zugesetzt werden, um dann nach dem Einwirkenlassen bei Brutschranktemperatur mit den Eiweißkörpern des Blutes zugleich gefällt zu werden. Es durften keine zu starken Alkalien zur Vertreibung des Ammoniaks verwendet werden, da ansonsten auch NH_2-Gruppen der Aminosäuren, Polypeptide, abgespalten werden könnten. Am geeignetsten erwies sich eine 6 %ige Boratlösung, der etwas Kupfersulfat zugesetzt wurde, um etwa freiwerdenden Schwefel aus den Eiweißverbindungen zu binden. Wir konnten Aminosäuren auch durch längeres Kochen mit dieser Boratlösung nicht zersetzen. Tabelle XIII zeigt, daß durch den obenbeschriebenen Boratkupferpuffer das gesamte Ammoniak aus einer gestellten Ammonsulfatlösung in Freiheit gesetzt werden kann.

Tabelle XIII.

Leerwert	Vollwert	Differenz	Gefunden mg N	Berechnet mg N
10,14	8,22	1,92	0,0896	0,0904
10,14	6,31	3,83	0,1782	0,1808
10,14	4,36	5,78	0,2699	0,2712
10,14	2,42	7,72	0,3605	0,3616

Reagenzien:

1. Acetatpufferlösung nach FOLIN: 3,5 ccm einer 15%igen Natriumacetatlösung, die 1 ccm Eisessig in 100 ccm enthält, werden in dest. Wasser auf 100 ccm aufgefüllt.

2. 0,1 g Urease = Tablette Urease (Squibb) wird zerrieben und mit 10 ccm Wasser versetzt.

3. Enteiweißungslösung: Zu einem Teil der 10%igen Natriumwolframatlösung werden unmittelbar vor dem Gebrauche 1,2 Teil einer 2/3n-Schwefelsäure und 7,8 Teile dest. Wassers zugesetzt.

4. Natriumtetraborat: 6 g Natriumtetraborat, 1 g Natriumtartrat (zur Verhinderung der Kupferoxydausscheidung), 2 ccm einer FEHLING-I-Lösung und 4 ccm 1n-NaOH werden in dest. Wasser gelöst und auf 100 ccm aufgefüllt.

Alle anderen Reagenzien bleiben dieselben wie bei Reststickstoff beschrieben (siehe S. 84).

a) Methode zur Bestimmung des Harnstoffes im hämolysierten Vollblut und Serum.

Die benötigte Zahl von Eprouvetten wird mit 4,8 ccm der Acetatpufferlösung 1 beschickt. Aus der Fingerbeere oder dem Ohrläppchen werden 0,2 ccm Blut mit einer Kapillarpipette entnommen. Die Pipette wird nach sorgfältiger Reinigung von dem außen anhaftenden Blute in die Eprouvette ausgeblasen und durch zweimaliges Aufziehen und Ausblasen nachgewaschen. In 2 bis 3 Röhrchen kommen als Kontrolle 5 ccm Pufferlösung 1 (wir benützten eine Vollpipette mit 2 Marken, und zwar bei 4,8 ccm und 5 ccm). Nach Zusatz von 1 ccm Ureaselösung 2 werden die mit einem reinen Korkstöpsel verschlossenen Röhrchen in einen auf 37° eingestellten Thermostaten gebracht. Nach 40 bis 45 Minuten werden die Röhrchen herausgenommen und mit 6 ccm der Natriumwolframat-Schwefelsäure-Lösung 3 versetzt. Dann werden alle Röhrchen auf 4 bis 5 Minuten in ein etwa 40gradiges Wasserbad gegeben und nach dem Abkühlen filtriert (Rundfilter 7 cm, Schleicher & Schüll, Nr. 597). 9 ccm des Filtrats werden in den früher beschriebenen Destillierapparat nach PARNAS-WAGNER überführt und mit 6 ccm Natriumtetraboratlösung nachgefüllt und

nachgewaschen. Es wird zweimal 4 Minuten destilliert und darauf geachtet, daß während der ersten 4 Minuten das vom Kühler kommende Rohr gut in die Vorlage eintaucht. Vorgelegt werden 10 ccm der 0,01n-Natriumhypobromitlösung. Erwartet man normale kleine Harnstoffwerte, so empfiehlt es sich, kleinere Hypobromitmengen vorzulegen, die der erwarteten Menge annähernd entsprechend (etwa pro 45 mg Harnstoff-Stickstoff 2 ccm 0,01n-Hypobromit).

Titration:

Zu jedem Kölbchen werden ein Körnchen Kaliumjodid und etwa 2 ccm Salzsäurelösung zugesetzt. Titriert wird mit 0,01 bis 0,005n-Thiosulfat bis strohgelb und nach Zusatz einiger Tropfen Stärke bis farblos.

Berechnung:

Die Differenz aus Leerwert weniger Vollwert mal 31,1 ergibt den Harnstoff-Stickstoff in mg% bei Verwendung von 0,01n-$Na_2S_2O_3$. Arbeitet man mit 0,005n-$Na_2S_2O_3$, so wird die Differenz mit 15,5 multipliziert.

Zur Prüfung unserer Methode stellten wir folgende Kontrollversuche an:

1. Bestimmung gewogener Mengen von Harnstoff,

2. Bestimmung gewogener Mengen von Harnstoff, die dem Serum oder Vollblut zugesetzt worden waren,

3. Vergleich mit der kolorimetrischen Methode nach Kilisiecki-Parnas[3] (vgl. hierzu Tabelle XIV bis XVI).

Tabelle XIV.

Eingewogen U mg%	+ Gefunden mg%
34	35,49
68	67,59
102	101,38
171	173,7

[3] Biochem. Ztschr., **176**, 94 (1926).

Tabelle XV.

		Zugesetzter Harnstoff	Summe	
			Gefunden	Berechnet
	mg%	mg%	mg%	mg%
a) Serum:	6,84	51,32	57,85	58,15
	3,25	25,57	28,83	28,82
	10,54	13,33	23,56	23,87
b) Blut:	10,04	22,50	31,99	32,54
	4,49	21,08	26,66	26,57
	14,41	21,85	38,59	36,27

Tabelle XVI.

	Kolorimetrische Methode Klisiecki-Parnas	Titrimetrische Methode
	mg%	mg%
a) Blut:	6,9	8,37
	8,6	10,38
	17,1	16,27
b) Serum:	9,9	8,99
	11,2	11,16
	17,4	17,82

b) Methode zur Bestimmung des Harnstoffes im nichthämolysierten Blute.

In Analogie zur Reststickstoffbestimmung im nichthämolysierten Vollblute arbeiteten wir eine Methode aus, die es gestattet, auch den Harnstoff im nichthämolysierten Blute zu bestimmen. Prinzipiell unterscheidet sich diese Methode nicht von der obenbeschriebenen im Serum und hämolysierten Vollblute. Während aber bei der letzteren zur wässerigen Acetatpufferlösung das Blut zugesetzt wird, wird das Blut bei dieser Methode mit einer gepufferten hypertonischen Natriumsulfatpufferlösung gemischt und so der Ureasewirkung bei Brutschranktemperatur unterworfen. Nach dem Abkühlen wird vorsichtig eine Natriumwolframat-Schwefelsäure-Mischung zugesetzt, zentrifugiert und, wie oben beim hämolysierten Vollblut beschrieben, weiterbehandelt.

Reagenzien:

1. 20 ccm einer 10%igen wasserfreien Natriumsulfatlösung werden mit 3.5 ccm einer 15%igen Natriumacetatlösung, die in 100 ccm 1 ccm Eisessig enthält, gemischt und die Mischung auf 100 ccm in einem Meßkolben aufgefüllt.

2. 0,1 g Urease (1 Tablette Urease Squibb) wird zerrieben und in 10 ccm einer 2%igen Natriumsulfatlösung bis zur Lösung geschüttelt.

3. Enteiweißungslösung: Vor dem Gebrauch werden 10%ige Natriumwolframatlösung und 2/3n-Schwefelsäure zu gleichen Teilen gemischt.

Alle anderen Reagenzien sind die gleichen wie die unter a) beschriebenen (vgl. p. 21).

Arbeitsgang: Die benötigte Zahl von Eprouvetten wird mit 4,8 ccm der hypertonischen Pufferlösung 1 beschickt. Aus der Fingerbeere werden 0,2 ccm Blut mit einer Kapillarpipette entnommen und nach sorgfältiger Reinigung von dem außen anhaftenden Blut in die Eprouvette ausgeblasen und, wie üblich, ausgewaschen. In 2 bis 3 Röhrchen kommen als Kontrolle 5 ccm der Pufferlösung 1. Nach Zusatz von 1 ccm Ureaselösung werden die mit einem reinen Korkstöpsel verschlossenen Röhrchen 45 Minuten im Thermostaten gehalten und nach dem Abkühlen tropfenweise mit 2 ccm der Natriumwolframatschwefelsäure versetzt. Nach 15 Minuten langem Stehen werden die Eprouvetten abzentrifugiert. 6 ccm der klaren überstehenden Flüssigkeit (wenn nötig, wird die überstehende Flüssigkeit durch ein Filter filtriert) werden in den Parnas-Wagner-Apparat gebracht und, wie unter a) beschrieben, weiterbehandelt.

Die nach dieser Methode angesetzten Parallelbestimmungen stimmten untereinander sehr gut. Um jedoch festzustellen, daß nach dieser Methode der ganze Harnstoff aus den roten Blutkörperchen extrahiert wird und nicht etwa von den Erythrozyten absorbiert wird, setzten wir dem Blute gewogene und bekannte Harnstofflösungen (gelöst in 2%iger Natriumsulfatlösung) zu. In allen Versuchen konnten wir, ebenso wie dies Tabelle XVII zeigt, die zugesetzten Harnstoffmengen quantitativ wieder finden.

Tabelle XVII.

mg% Harnstoff in der nichthämolysierten Blutprobe	Zugesetzter Harnstoff mg%	Summe Gefunden mg%	Summe Berechnet mg%
14,4	22,50	35,7	36,90
20,4	22,50	41,7	42,9
31,2	22,50	52,0	53,7

Um weiter zu beweisen, daß es bei der direkten Behandlung des Blutes bei 37° mit Urease in der hypertonischen Natriumsulfatlösung zu keiner Schädigung der Erythrozyten kommt, führten wir folgende Versuche durch.

1. 5 ccm des zu untersuchenden Blutes wurden mit 45 ccm einer hypertonischen 2%igen Natriumsulfatlösung gemischt, 15 Minuten bei Zimmertemperatur stehengelassen, nachher scharf abzentrifugiert; der überstehenden Flüssigkeit wurden je 2 ccm, entsprechend 0,2 ccm des nativen Blutes, entnommen, mit 3 ccm der Pufferlösung gemischt, mit 1 ccm Ureaselösung behandelt und der Harnstoff wie oben bestimmt.

2. 5 ccm desselben Blutes wurden nach der von Folin angegebenen Halbmikromethode (siehe S. 86) behandelt. 2 ccm des eiweißfreien Filtrats, entsprechend 0,2 ccm Blut, wurden mit 3 ccm der Acetatpufferlösung gemischt und nach Zugabe von Urease wie oben behandelt.

3. Bestimmung des Harnstoffgehaltes des nichthämolysierten Blutes nach unserer obenbeschriebenen Methode.

Wie Tabelle XVIII zeigt, stimmen die nach unserem Verfahren ermittelten Werte mit denen nach beiden Makromethoden gewonnenen völlig überein.

Tabelle XVIII.

Harnstoffwerte erhalten		
nach unserer Mikromethode	nach der ersten Makromethode	nach der zweiten Makromethode
12,5	12,8	12,7
18,7	19,2	19,0
25,4	25,9	25,3
38,2	38.4	37,9
51,3	50,8	51,1

Diese Harnstoffbestimmung besitzt folgende Vorteile:

1. Das Schäumen bei der Destillation durch Fällung der Urease und der Eiweißkörper wird verhindert.

2. Auch bei hohem Harnstoffgehalt wird durch einmalige Destillation das gesamte Ammoniak quantitativ überführt.

3. Die bisher übliche ungenaue Kolorimetrie wird durch die exakte Titration ersetzt.

Beiträge zur Mikro-Indikanbestimmung im Blut.

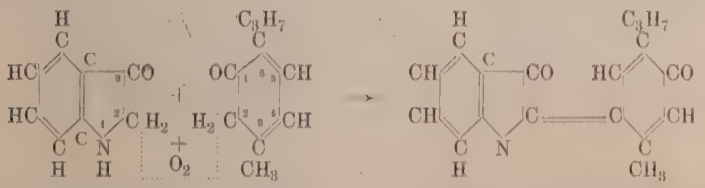
Von

F. Rappaport und H. Engelberg[1].

Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der Universität und dem S. Canning Childs-Spital und Forschungsinstitut in Wien.

(Eingelangt am 28. Juli 1933.)

Die Indikanbestimmung im Blut wird vorwiegend nach der klassischen Methode von A. Jolles[2] ausgeführt; diese Methode beruht darauf, daß Indoxylschwefelsäure mit Thymol kondensiert wird, wonach eine Oxydation mit Obermayer's Reagens (Eisenchlorid mit konz. Salzsäure) erfolgt; es entsteht hierbei aus dem Indikan ein neues Indoxylderivat, dessen Konstitution von Jolles als 4-Cymol-2-Indolignon erkannt wurde. Der Reaktionsverlauf der zur Bildung dieses Farbstoffes führt, ergibt sich aus folgender Gleichung:



Indoxyl, tautomere Form — Thymol, hypothetische tautomere Form — cörulignonartiger Farbstoff, 4-Cymol-2-Indolindolignon

Fernerhin fand Jolles, daß man ebenfalls Indolignonfarbstoffe bekommt, wenn man das Thymol durch seine Abkömmlinge oder andere aromatische Phenole ersetzt, sofern bei diesen das zur OH-Gruppe in Orthostellung befindliche Wasserstoffatom beweglich und durch keine anderen Radikale ersetzt ist. Trotz vielfacher Modifikationen erfordert dieses empfindliche Verfahren relativ große Blutmengen. Wir haben deshalb eine Vorschrift ausgearbeitet, die es gestattet, in 0,2 ccm Blut oder Serum (auch Harn) Indikan genau zu bestimmen.

[1] Vgl. vorl. Mitt., Kl. Wochenschrift, **12**, 71 (1933).

[2] Ztschr. physiol. Chem., **95**, 1 (1915).

A. Quantitative Bestimmung des Indikans mit Teströhrchen.

0,2 ccm Blut oder Serum werden mit Trichloressigsäure enteiweißt und das eiweißfreie Filtrat mit einer gemessenen Menge von Thymol, bezw. Bromthymol versetzt. (Die Teströhrchen wurden Bromthymol angesetzt, da es sich gezeigt hat, daß die Thymolindikanverbindung sich nach viel kürzerer Zeit zersetzt als die entsprechende Bromthymolverbindung; man kann die laufenden Untersuchungen mit Thymol ausführen, da die Empfindlichkeit der Reaktion und die Farbqualität — wie es schon auch JOLLES gezeigt hat — die gleiche ist wie beim Bromthymol.) Bei Vorhandensein von Indikan kommt in Gegenwart von OBERMAYER's Reagens zur Bildung des violetten Farbstoffes. Gleichzeitig bildet die Trichloressigsäure und der Alkohol des (Brom) Thymols unter der Einwirkung der konzentrierten Salzsäure eine Verbindung, die in Form von Öltropfen sich aus dem Reaktionsgemisch ausscheidet und den etwa gebildeten Farbstoff quantitativ in sich aufnimmt; es fällt dadurch die bisher übliche Chloroformausschüttelung des Farbstoffes weg. Die Bildung der Öltropfen kommt auch beim Fehlen des Thymols zustande; es ist deshalb wahrscheinlich, daß die Öltropfen von Trichloressigsäureäthylester gebildet werden. Bei gleicher Reaktionsdauer ist die Größe des

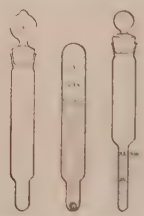


Abb. 1.

Tropfens direkt abhängig von der Konzentration der Trichloressigsäure, des Alkohols und der Salzsäure. Die Geschwindigkeit der Esterbildung ist in den ersten 12 Stunden die größte, nach Verlauf dieser Zeit minimal, doch erst ungefähr nach 2 Wochen beendet. Praktisch variierten wir die Menge der alkoholischen Thymollösung, um bei Erneuerung eines der obengenannten Reagenzien die Tropfengröße konstant zu erhalten. Die Bestimmung

der Tropfengröße ist notwendig und sehr wichtig, wenn man einwandfreie und reproduzierbare Versuchsresultate erhalten will. Die Tropfengröße bestimmten wir in einem Proberöhrchen mit eingeschliffenem Glasstöpsel (siehe Abb. 1 c), deren Boden kapillar ausgezogen und in 0,01 ccm geteilt ist.

Reagenzien:

1. 40%ige Trichloressigsäure (genau!). Zur Herstellung der Lösung wird kristallisierte Trichloressigsäure (Merck) verwendet, die einer frisch eröffneten Originalflasche entnommen werden muß.

2. a) Bromthymol. Einer Lösung von 6 g Thymol in 25 ccm Äther wird tropfenweise eine Lösung von 2,2 ccm Brom, ebenfalls in 25 ccm Äther gelöst, unter Wasserkühlung zugesetzt. Das Reaktionsprodukt wird im Scheidetrichter mit Wasser ausgeschüttelt, so von HBr befreit und die ätherische Lösung nach dem Abheben mit wasserfreiem Natriumsulfat über Nacht getrocknet. Nach dem Filtrieren wird der Äther bei niedriger Temperatur (eventuell im Vakuum) abgedampft. Das zurückbleibende Öl, das aus Bromthymol besteht, wird in 100 ccm Alkohol, dem 1 ccm Ameisensäure vom spezifischen Gewicht 1,2 zugefügt wurde, gelöst. Diese Herstellungsweise von Bromthymol stützt sich auf die Angaben von Plancher[3]. Bei unserer Darstellungsweise wurde absichtlich Brom in Überschuß verwendet, um mit Sicherheit das gesamte Thymol in Bromthymol zu überführen. Neben dem Bromthymol bildet sich etwas Dibromthymol. Das zweite Bromatom besetzt bei dieser Darstellungsart anscheinend das zur OH-Gruppe in Orthostellung stehende Wasserstoffatom, denn Bromthymol, das unter denselben Bedingungen, aber mit doppelter Menge Brom hergestellt wurde, läßt sich nicht mit Indikan kondensieren. Der Zusatz von Ameisensäure bezweckt, freies Halogen (aus alten Obermayer-Lösungen, bezw. etwa aus Bromthymol) zu zersetzen.

b) 5 g Thymol werden in 100 ccm Alkohol, dem 1 ccm Ameisensäure vom spezifischen Gewicht 1,2 zugefügt wurde, gelöst.

3. Eisenchlorid-Salzsäure-Reagens: 40 ccm des gebräuchlichen Obermayer-Reagens werden auf 1000 ccm mit konzentrierter rauchender Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,19 aufgefüllt.

[3] Gazz. chim. Ital., 23 (2) 76.

4. Vergleichsreihe: 0,096 g (analytisch gewogen) Original-MERCK'sches Harnindikan und 1,5 g Natriumfluorid werden in einem Meßkolben auf 150 ccm aufgefüllt (Lösung A). Diese Lösung ist lange Zeit haltbar. Zur Herstellung einer Verdünnungsreihe werden zunächst 5 ccm dieser Lösung mit Wasser auf 1000 ccm aufgefüllt (Lösung B). 25 ccm der Lösung B werden mit genau 25 ccm einer 20%igen Trichloressigsäurelösung (hergestellt aus Lösung 1) verdünnt (Lösung C). 3 ccm dieser Lösung entsprechen 0,15 ccm einer 3,2 mg%igen Indikanlösung. Um eine Verdünnungsreihe herzustellen, wird die Lösung C entsprechend dem in Tabelle 1 angegebenen Schema mit 10%iger Trichloressigsäure verdünnt.

Tabelle 1.

Nr.	Lösung C in ccm	10%ige Trichloressigsäure in ccm	3 ccm entsprechen 0,15 ccm einer Indikanlösung von mg%
I	10	0	3,2
II	8	2	2,56
III	7	3	2,24
IV	6	4	1,92
V	5	5	1,60
VI	4	6	1,28
VII	3	7	0,96
VIII	2	8	0,64
IX	1,5	8,5	0,48
X	1,0	9,0	0,32
XI	0,75[4]	9,25	0,24
XII	0,5[5]	9,5	0,16

Je 3 ccm dieser Verdünnungen werden in je ein Röhrchen nach Abb. 1 b gebracht, 0,08 ccm Bromthymollösung (2.) zugegeben, durchgemischt und 3 ccm der OBERMAYER-Lösung (3.) zugesetzt, wieder durchgemischt, zugestöpselt und nach etwa 12 Stunden zugeschmolzen, dann 2 Wochen im kühlen dunklen Raum reifen gelassen. Nach 2 Wochen wird durchgeschüttelt und zentrifugiert. Die Reihe ist nun gebrauchsfähig und, kühl und im Dunkeln aufbewahrt, längere Zeit haltbar.

Um Teströhrchen in kürzerer Zeit herzustellen, vergrößerten

[4] Man kann auch 5 ccm der Lösung IX und 5 ccm 10%ige Trichloressigsäure nehmen.

[5] Man kann auch 5 ccm der Lösung X und 5 ccm Trichloressigsäure nehmen.

wir die Bromthymolmenge auf 0,16 bis 0,18 ccm. Diese Bromthymolmenge muß nach dem obenbeschriebenen Verfahren in Meßröhrchen (Abb. 1 c) ermittelt werden. Nach 4 Stunden werden die Röhrchen abzentrifugiert, die dem Öl überstehende Flüssigkeit vorsichtig abgehoben und mit 6 ccm einer zur Hälfte mit Wasser verdünnten OBERMAYER-Lösung (3.) überschichtet

Methodik.

0,2 ccm Blut oder Serum werden unter Zusatz von 2,8 ccm destilliertem Wasser mit 1 ccm Trichloressigsäure (1.) enteiweißt und durch ein Schleicher-&-Schüll-Filter (602 D = 5 cm) filtriert. 3 ccm des Filtrates werden in Röhrchen (Abb. 1 a) mit der für die vorhandenen Reagenzien einmal ermittelten Menge Thymol (Bromthymol) versetzt, mit 3 ccm der Eisenchlorid-Salzsäure (3.) gemischt, 4, bezw. 12 Stunden im Dunkeln stehengelassen, zentrifugiert und mit den Röhrchen der Reihe verglichen.

Die benötigte (Brom-) Thymolmenge wird je nach der beabsichtigten Reaktionsdauer (4 oder 12 Stunden) bemessen und einmal mit einem beliebigen Blute, das nach obiger Vorschrift enteiweißt und verarbeitet wurde, ermittelt. Die zur Herstellung einer Tropfengröße von 0,04 ccm benötigte Menge (Brom) Thymol schwankt beim Ablesen der Resultate nach 4 Stunden zwischen 160 bis 190 cm, beim Ablesen nach 12 Stunden zwischen 110 und 140 cm. Diese Titration muß jedesmal bei Erneuerung einer der Reagenzien wiederholt werden.

Zum Vergleichen kann man ein WALPOLE-Komparator verwenden, dessen Öffnungen dem unteren Teile der Eprouvetten entsprechen.

Bei Verwendung des Trichloressigsäurefiltrates (1 Teil Serum + + 2 Teile H_2O + 2 Teile 20%ige Trichloressigsäure), das zur Halbmikrobestimmung des Rest-N im Blute üblich ist, nimmt man 0,75 ccm desselben und versetzt mit 2,25 ccm einer 10.7%igen Trichloressigsäurelösung, die durch Verdünnung von 26,75 ccm der Lösung 1 auf 100 ccm destillierten Wassers bereitet werden kann. Der weitere Arbeitsgang entspricht dem oben Geschilderten.

Um die Methode auf ihre Genauigkeit zu prüfen, haben wir wiederholt zu verschiedenen Sera eingewogene Mengen Indikan zugesetzt und stets das zugesetzte Indikan wieder gefunden.

Tabelle 2.

Indikanmenge im Ausgangsmaterial in mg%	Eingewogene Indikanmenge	Abgelesene Menge Serum + Indikan
Serum: 0,64	1,92	2,56
Serum: 0,32	0,48	0,80
Blut: 0,32	0,48	0,80
Blut: 0,48	0,16	0,64

B. Quantitative Bestimmung des Indikans im Authenrieth-Kolorimeter.

Reagenzien und Arbeitsgang wie oben, doch müssen die Eprouvetten so modifiziert werden (Abb. 2a), daß sie an den AUTHENRIETH-Keil anliegen. Eingehängt werden die Eprouvetten in eine Vorrichtung, wie sie gleichfalls Abb. 2b zeigt. Es erwies sich als zweckmäßig, den Spalt des Kolorimeters so weit zu verengen, daß die gelbe Säurelösung des Versuchsröhrchens unsichtbar wird. Als Standardlösung verwendeten wir eine Mischung von wässerigen Lösungen Lithiumkarmin (Grübler) und Methylenblau (Höchst), der etwas Natriumfluorid zugesetzt wird. Für das Auffinden der geeigneten Farbstoffe und der Mischung sind wir

Abb. 2.
Röhrchen mit einem Einsatz zur kolorimetrischen Blut-Indikan-Untersuchung im AUTENRIETH-Kolorimeter.

unserem Laboranten, Herrn A. TAUSCHEK, zu großem Danke verpflichtet. Wir können keine genaue Vorschrift zur Herstellung der Standardfarbe angeben, da die käuflichen Farbstofflösungen nicht gleichmäßig sind. Ist einmal die richtige Farbstoffmischung gefunden worden, so erfolgt die Eichung des Keiles mit Hilfe von Versuchsröhrchen (Abb. 2) mit einer Indikanreihe, hergestellt nach dem Schema der Tabelle 1[6].

[6] Der Firma P. Haack danken wir auch an dieser Stelle für die wertvolle Unterstützung bei der Herstellung verschiedener Versuchsmodelle.

Bemerkungen zur quantitativen Mikro-Mineralanalyse.

Von

Friedrich Hecht.

Aus dem Analytischen Laboratorium der Universität Wien.

In einer in dieser Zeitschrift[1] erschienenen Abhandlung von H. Thurnwald und A. A. Benedetti-Pichler, betitelt „Gravimetric Microanalysis of Beryllium Silicate Rocks", finden sich einige Bemerkungen, welche mich zu einer sachlichen Richtigstellung veranlassen. Die betreffenden Stellen lauten: "I would like to point out, that this paper gives for the first time a well founded procedure for a very complicated quantitative separation which can be started with only a few milligrams of sample." (Seite 201) sowie ferner: "A complete procedure for a complicated quantitative micro analysis in which a single sample of a few milligrams weight was used, has been carried out for the first time." (Seite 220.) Demgegenüber sei bemerkt, daß in Band X, Seite 45, dieser Zeitschrift eine Arbeit von mir unter dem Titel „Zur Analyse sehr kleiner Mengen von Morogoro-Uraniniten" erschienen ist, welche auf Seite 51 folgenden Satz enthält: „In diesem Zusammenhange möge darauf hingewiesen sein, daß, soweit mir bekannt ist, im vorliegenden Falle zum ersten Male eine Mikromethode für den Analysengang eines Minerals praktisch durchgearbeitet und zahlenmäßig belegt wurde."

Die beiden oben genannten Autoren sind der Ansicht, die ersten

[1] Mikrochemie, **XI**, 200 (1932) (der Schriftleitung eingereicht am 22. Februar 1932).

zu sein, welche komplizierte, quantitative mikroanalytische Trennungen in einem Analysengange an einer Einwaage vorgenommen haben. Denselben Anspruch, und zwar ebenfalls für eine Mikromineralanalyse, habe ich aber schon mehr als ein halbes Jahr früher auf Grund der oben zitierten Arbeit (Einreichungsdatum 17. Juli 1931) erhoben. Meine Arbeit, über deren Fortgang ich gemeinsam mit W. Reich-Rohrwig in der Wiener Chemisch-Physikalischen Gesellschaft berichtet habe[2], dürfte daher offenbar H. Thurnwald und A. A. Benedetti Pichler entgangen sein. Im übrigen hat am 15. Februar 1932 Herr Dr. H. Hufber vor der Wiener Mineralogischen Gesellschaft einen Vortrag über Gesamtmikroanalysen von titan- und manganhaltigen Silikaten gehalten[3]. Allenfalls wäre noch eine von A. v. Endrédy am 25. Februar 1932 eingereichte Arbeit über die Halbmikroanalyse sulfidischer Mineralien[4] zu erwähnen.

H. Thurnwald und A. A. Benedetti-Pichler haben ihre Methode an gestellten Lösungen überprüft, während ich meine Analysen mit Hilfe von nach bewährten Methoden[5] ausgeführten Makroanalysen an homogenem Material kontrolliert und gute Übereinstimmung gefunden habe. Es wurde dabei dieselbe Genauigkeit erreicht, welche F. W. Hillebrand, der Altmeister und Begründer der wissenschaftlich exakten Analyse der Pechblenden, bei diesen Analysen erzielt hat[6], und demgemäß kann an der Anwendbarkeit mikroanalytischer Methoden für die besonderen Zwecke der Mineralanalyse nicht gezweifelt werden.

Ein Unterschied in der von H. Thurnwald und A. A. Benedetti-Pichler einerseits und mir anderseits befolgten Arbeitsweise besteht darin, daß erstere mit Einwaagen von 2 bis 4 mg Mineral, ich jedoch mit solchen von 20 bis 30 mg gearbeitet habe. Es ist jedoch in Betracht zu ziehen, daß die von mir analysierten Morogoro-Pechblenden allein zu 83 bis 86% aus U_3O_8 und zu rund

---

[2] Vortrag am 26. Jänner 1932; referiert in Ind. Eng. Chem. News Ed., vol. 10, p. 87, mit Datum vom 3. Februar 1932, sowie auch in Allg. österr. Chem. Techn. Ztg., 50, 35 (1932).

[3] Inhaltlich wiedergegeben in Mineral. petrogr. Mitt., 43, 84 (1932).

[4] Ztschr. analyt. Chem., 89, 100 (1932).

[5] E. Körner und F. Hecht, Monatsh. Chem., 49, 438 (1928).

[6] Bull. geol. Surv. U. S., Nr. 78 (1891).

7% aus PbO bestanden, während die übrigen Bestandteile bloß von 0,03 bis 2,76% betrugen; angesichts einer derart ungünstigen Zusammensetzung, bei der beinahe neun Zehntel des Minerals auf U_3O_8 allein entfallen, war es naturgemäß erforderlich, mit der Einwaage etwa um eine 10er-Potenz gegenüber derjenigen Menge hinaufzugehen, mit der andernfalls das Auslangen zu finden gewesen wäre. In der Tat hielten sich die Mikroauswaagen aller Bestandteile der Morogoro-Pechblenden, mit Ausnahme des Urans, vollkommen in der gleichen Größenordnung wie bei den Beryllgesteinsanalysen von H. Thurnwald und A. A. Benedetti-Pichler. Dabei ist noch zu bedenken, daß das besonders hohe Atomgewicht von Uran und Blei an und für sich ein bedeutend größeres spezifisches Gewicht und daher relativ kleineres Volumen ihrer Bestimmungsformen, mithin eine gesteigerte Schwierigkeit des Operierens mit ihnen zur Folge hat.

Daß die in meiner ersten Mitteilung dargelegten Analysenmethoden sich weiterhin bewährt haben und inzwischen weiter ausgebaut werden konnten, ist aus Veröffentlichungen[7] ersichtlich, die zum Teil gemeinsam mit W. Reich-Rohrwig für das amerikanische „Committee on the measurement of geologic time" ausgeführte Arbeiten betreffen. Seit längerer Zeit arbeiten wir außerdem an ihrer Überprüfung mittels Standardlösungen und hoffen, bald in der Lage zu sein, die Ergebnisse in dieser Zeitschrift zu publizieren.

[7] Mikrochemie, **XII**, 193 (1932), und **XII**, 281 (1933).

Bemerkungen zur quantitativen Mikro-Mineralanalyse.

Von

A. A. Benedetti-Pichler.

In Beantwortung der Richtigstellungen von Friedrich Hecht.

Answering F. Hecht's article of the same title[1].

I regret that I am, at least in part, responsible for precipitating this discussion by not making reference to F. Hecht's work. There is, however, some justification for the omission since our work[2] deals with the development of a precise gravimetric micro procedure and only by way of example with the analysis of a mineral. F. Hecht's paper, on the other hand, is a report of analyses on minerals using micro and macro methods.

Concerning the priority claim of H. Hecht, the implication is that his procedures have been carefully tested. I will leave this decision up to the reader.

New York City, July 16, 1933.

[1] Mikrochemie, XIV, 81 (1933).

[2] Benedetti-Pichler and co-workers.

Sammelreferat.

Mikromethoden zur Eiweissbestimmung in der Medizin und Biologie.

Von

Alfred Wasitzky.

(Eingelangt am 14. Juni 1933.)

Die hervorragende Rolle der Eiweißkörper beim Ablauf physiologischer und pathologischer Vorgänge, welche durch die Anwendung physikalisch-chemischer Betrachtungsweise in ein neues Licht gerückt wurde, bringt es mit sich, daß gerade in diesen Disziplinen ein großer Bedarf an einfachen und rasch durchzuführenden Mikromethoden herrscht, um so mehr, als die zur Untersuchung gelangenden Probenmengen beschränkt sind oder die Eiweißkonzentration derselben eine sehr geringe ist. So entstand eine große Zahl von verschiedenen Methoden, über die hier zusammenfassend berichtet werden soll. Nicht alle diese Methoden sind Mikromethoden im strengsten Sinne des Wortes, sondern es soll auch über solche, die genauer als Halbmikromethoden bezeichnet werden sollten, Bericht erstattet werden. Alle diese Methoden lassen sich in mehrere Gruppen zusammenfassen. Es sind:

I. Gravimetrische Methoden.
II. Kjeldahl-Methoden.
III. Refraktometrische, interferometrische und kombinierte refraktometrische und viskosimetrische Methoden.
IV. Diaphanometrische und nephelometrische Methoden.
V. Kolorimetrische Methoden.
VI. Sedimetrische Methoden.

VII. Maßanalytische Methoden.
VIII. Diverse andere Methoden.

Es sollen nun die einzelnen Gruppen eingehend besprochen werden:

I. Gravimetrische Methoden.

a) Bestimmung des Fibrinogens (gerinnungsfähige Eiweißkörper).

Die Abscheidung von Fibrinogen erfolgt entweder aus dem Natriumplasma durch spontane Gerinnung oder aus dem Salzplasma, meist Citratplasma, durch Fällung mit Calciumchloridlösung (Recalcifikation). H. C. Gram[1] fällt das Fibrinogen aus 2 ccm Citratplasma, welches mit 8 ccm physiologischer Kochsalzlösung verdünnt wurde, mit 2 ccm 1%iger Calciumchloridlösung und 6 ccm Wasser. Nach mehrstündigem Stehen bei 37° wird das abgeschiedene zusammenhängende Gerinnsel herausgenommen, zwischen Filtrierpapier getrocknet und samt der obersten Lage Filtrierpapier auf je 15 Minuten in eine Schale mit Wasser, Alkohol und Äther gebracht. Dann wird der Niederschlag getrocknet und gewogen. W. Starlinger[2], der in seinen Arbeiten sowohl eine quantitative Bestimmung als auch auf Grund seiner eingehenden Untersuchungen eine Kritik der verschiedenen Bestimmungsmethoden des Fibrinogens bietet, führt die Fibrinogenbestimmung folgendermaßen aus: Ein entsprechend markiertes 2,5 ccm-Röhrchen wird mit 0,25 ccm einer 3,6%igen Natriumoxalatlösung beschickt und mit nativem Blut bis zur Marke 2,5 ccm aufgefüllt. Nach dem Zentrifugieren wird das Plasma vollständig abgehoben und das Fibrinogen durch Zusatz von 0,2 ccm einer 1,2%igen Calciumchloridlösung gefällt. Das zwischen Filtern abgepreßte Gerinnsel wird mit Wasser, Alkohol und Äther gewaschen und im Wägeglaschen bei 105° getrocknet und gewogen. T. Hasuike[3] empfiehlt dieses Verfahren als das genaueste.

[1] Journ. biol. Chem., 49, 279 (1921).
[2] Biochem. Zeitsch. 140, 203 (1923); 148, 179 (1924).
[3] Okayama Igakkai Zasshi, 40, 1232 (1928).

b) Bestimmung von Gesamteiweiß, Albumin (Ammonsulfatganzsättigungsfraktion) und Globulin (Ammonsulfathalbsättigungsfraktion).

Zur Bestimmung des Gesamteiweißes versetzt N. W. Berg[4] 0,5 ccm Serum so lange mit n 50-Essigsäure, bis die über einer kleinen Flamme erhitzte Lösung gerade koaguliert. Dann wird der Niederschlag 20 Minuten lang bei 2400 Touren zentrifugiert und sodann im Vakuumexsikkator getrocknet und gewogen. H. Bierry und L. Moquet[5] fällen das Gesamteiweiß des Blutplasmas bei pH 5,5. Nach ihren Angaben werden 20 ccm einer Plasmaverdünnung 1 : 10 mit einem Tropfen Alizarinlösung versetzt und bis zur Orangefärbung n 10 Essigsäure oder n 100-Salzsäure zutropfen gelassen. Dann wird 15 Minuten im siedenden Wasserbad erhitzt. Der Niederschlag wird durch ein gewogenes doppeltes Filter filtriert, mit Wasser, heißem Alkohol und Äther gewaschen und nach dem Trocknen gewogen. H. Bierry und R. Vivario[6] führen die Fällung der gesamten Proteine mittels Aceton durch und bedienen sich folgender Methode: In einem Zentrifugenglas mit eingeschliffenem Stopfen werden 3 ccm Plasma mit 10 ccm Aceton, welches über die Bisulfitverbindung gereinigt wurde, versetzt und nach dreistündigem Stehen zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wird durch ein gewogenes Filter filtriert und der Niederschlag dreimal mit Aceton gewaschen. Sodann wird dieser in 20 ccm 0,5%iger Kochsalzlösung aufgeschwemmt, worin er sich zum Teil löst, die Lösung mit einem Tropfen Methylrot versetzt und dann so lange n 10 Essigsäure zugetropft, bis man an der Orangefärbung erkennt, daß ein pH von 5,5 erreicht ist. Nun wird 2 Stunden im siedenden Wasserbad erhitzt und durch das gewogene Filter dekantiert und der Niederschlag mit siedendem Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaktion gewaschen, wobei die Hauptmenge des Niederschlages im Zentrifugenrohr zurückbleiben soll. Dann werden Filter und Zentrifugenrohr bei 105° getrocknet und gewogen. A. Grigaut, A. Boutroux und

[4] Journ. lab. and clin. med., 6, 223 (1921).
[5] C. r. soc. biol., 87, 329 (1922).
[6] C. r. soc. biol., 89, 13 (1923).

A. CODOUNIS[7] haben folgendes Verfahren ausgearbeitet, bei dem das Gesamteiweiß durch Alkohol gefällt wird: 5 ccm Serum werden in 60 ccm 95%igem Alkohol eingetragen und kurz zum Sieden erhitzt. Der Niederschlag wird quantitativ auf einem Filter gesammelt, 5 Minuten mit siedendem Alkohol extrahiert, dann getrocknet und gewogen. R. WIEGAND[8] empfiehlt die Verwendung von Tannin zur quantitativen Eiweißbestimmung und gibt an, daß das Serumeiweiß mit diesem Reagens noch in mehr als millionenfacher Verdünnung gefällt wird. H. LUNDIN[9] hat die Fällung von Eiweißkörpern durch Tannin in Blut, Milch und Bierwürze untersucht und hat die optimalen Fällungsbedingungen ermittelt. W. MIL-BRADT[10] findet im Myosalvarsan ein empfindliches Eiweißfällungsmittel. Quantitative Untersuchungen darüber fehlen noch.

Die Trennung der verschiedenen Eiweißkörper erfolgt vorwiegend nach dem klassischen Verfahren der fraktionierten Ammonsulfatfällung. Dabei fallen definitionsgemäß durch Halbsättigung die Globuline, während die Albumine durch vollständige Sättigung mit Ammonsulfat abgeschieden werden. Zur Trennung von Albumin und Globulin im Blutserum wird nach H. W. KNIPPING und H. L. KOWITZ[11] 1 ccm Serum nach Verdünnung mit Wasser mit der gleichen Menge gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt. Das abgeschiedene Globulin wird auf einem gewogenen Filter gesammelt und mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung gewaschen. Sodann wird das Filter mit dem Niederschlag zerschnitten, in Wasser suspendiert und nach Zusatz von Kochsalz und verdünnter Essigsäure gekocht, wobei eine grobflockige Fällung entsteht. Der Niederschlag wird durch ein zweites gewogenes Filter filtriert, gewaschen, getrocknet und gewogen. Im ersten Filtrat wird das Albumin mit verdünnter Essigsäure gefällt und ebenfalls zur Wägung gebracht. W. STARLINGER und HARTL[12] vereinfachen die vorstehende Methode, wobei sie bestrebt sind, einerseits die Fehler, welche durch Anhaften von Salzresten am Niederschlag entstehen

[7] Bull. soc. biol. Paris, **12**, 20 (1930).
[8] Münchn. med. Wochenschr., **73**, 521 (1926).
[9] Biochem. Ztschr., **238**, 1 (1931).
[10] Ztschr. physiol. Chem., **200**, 166 (1931).
[11] Ztschr. physiol. Chem., **135**, 84 (1924).
[12] Biochem. Ztschr., **157**, 283 (1925); **160**, 129 (1925); **168**, 429 (1927).

können, möglichst auszuschalten und anderseits durch Verwendung der Torsionswaage die Arbeitszeit abzukürzen. Gegenüber den von anderer Seite erhobenen Einwänden geben sie an, daß ein Anzeichen von Luftfeuchtigkeit bei der schnellen Wägung auf der Torsionswaage nicht zu befürchten ist. L. JENDRASSIK und K. KNIGL[13] sammeln die Eiweißniederschläge auf der Nutsche und verwenden als Filtermaterial Barchentstoff, der vor der Verwendung zunächst gut ausgekocht, dann mit Alkohol und Äther gewaschen und bei 105° getrocknet wird. Das Gewicht eines Filters soll bei einem Durchmesser von 3,5 cm zirka 300 bis 400 mg betragen. Das Filter wird mit der Watteseite nach oben eingelegt. Die Wägung erfolgt auf der Torsionswaage. D. SCHRIJVER[14] empfiehlt bei Anwendung der Methode von W. STARLINGER (siehe diese), das Filter mit dem Eiweißniederschlag immer genau eine Minute nach dem Herausnehmen aus dem Exsikkator zu wägen. Zur Kontrolle wägt er außerdem bei jeder Bestimmungsreihe noch vier leere getrocknete Filter, um auf diese Weise die wechselnde Absorption der Luftfeuchtigkeit in Rechnung stellen zu können. E. FRIED[15] bestimmt das Albumin und Globulin in 0,1 ccm Serum entweder durch Fällung des, mit 0,4 ccm destillierten Wassers verdünnten, Serums mit 0,5 ccm gesättigter Ammonsulfatlösung oder durch Zusatz von einem Tropfen gesättigter Ammonsulfatlösung und 1 bis 2 ccm n/50-Essigsäure zu 0,1 ccm Serum. Nach anderthalbstündigem Stehen im gut verschlossenen Zentrifugenröhrchen wird 20 Minuten bei 3000 Touren zentrifugiert. 0,7 bis 0,8 ccm der überstehenden Flüssigkeit verwendet man zur Albuminbestimmung, indem man mit der gleichen Menge n/25-Essigsäure ansäuert und im siedenden Wasserbad ausfällt. Der Niederschlag wird dann in der von F. PREGL[16] angegebenen Weise mittels Heberröhrchen in ein Filterröhrchen gebracht und mit Alkohol und Äther gewaschen. Nach dreiviertelstündigem bei 105 bis 110° wird rasch gewogen. In derselben Weise wird das Gesamteiweiß bestimmt und aus der Differenz das Globulin berechnet.

---

[13] Biochem. Ztschr., **200**, 19 (1930).
[14] Ztschr. ges. exp. Med., **72**, 228 (1930).
[15] Ztschr. ges. exp. Med., **60**, 615 (1928).
[16] F PREGL, Lehrbuch der quantitativen organischen Mikroanalyse.

J. von Daranyi und B. von Gözsy[17] geben eine Methode zur Trennung der Bluteiweißfraktionen an, die darauf beruht, daß gemessene Mengen von Serum auf geeigneten Papierfiltern aufgebracht und dann mit Ammonsulfatlösungen verschiedener Konzentration extrahiert werden, entsprechend dem Prinzip der Mikromethode von J. Bang[18]. Die auf dem Filter zurückbleibende Eiweißfraktion wird fixiert und nach dem Waschen und Trocknen gewogen. Die Ausführung gestaltet sich wie folgt: Je 0,5 ccm Serum werden auf Papierscheiben ausgeblasen. Als geeignetstes Material fanden die Verfasser das Schnellfilterpapier 6. M. N. der Firma Geßner und Kreuzig in Niederschlag bei Oberwiesenthal, Sachsen. Nach einstündigem Trocknen an der Luft bringt man die Filterscheiben in Petri-Schalen, welche mit den verschieden konzentrierten Ammonsulfatlösungen beschickt werden. Die erste Lösung ist eine bei 37° gesättigte Ammonsulfatlösung, die weiteren drei werden durch Verdünnung mit destilliertem Wasser bei 37° im Verhältnis von 60 : 100, 46 : 100 und 36 : 100 erhalten. Nach 24stündigem Stehen werden die Filter herausgenommen und mit derselben Ammonsulfatlösung nachgespült und kommen danach in das Fixierbad (100 g Sulfosalicylsäure und 0,5 g Sublimat in destilliertem Wasser gelöst und die Lösung auf 500 ccm aufgefüllt). Die Filter bleiben anderthalb Stunden in der Fixierlösung, kommen dann noch auf 2½ Stunden in physiologische Kochsalzlösung, die alle Viertelstunden gewechselt wird, und schließlich in destilliertes Wasser bis zum Verschwinden der Ammoniakreaktion mit Nessler's Reagens. Dann werden die Filter getrocknet und gewogen. Auf dem ersten Filter ist das Gesamteiweiß, auf dem zweiten Globulin und labiles Albumin, auf dem dritten Gesamtglobulin und auf dem vierten Euglobulin fixiert und es lassen sich dann aus den Differenzen die einzelnen Fraktionen berechnen.

Außer diesen bisher genannten Methoden zur Trennung der Eiweißfraktionen sowie den im nächsten Abschnitt bei den Kjeldahl-Methoden zur Besprechung gelangenden Verfahren, die zur Trennung Natriumsulfat oder Magnesiumsulfat verwenden, sind

[17] Biochem. Ztschr., **239**, 111 (1931).

[18] I. Bang, Mikromethoden zur Blutuntersuchung, Verlag J. F. Bergmann, München.

einige Methoden bekannt, bei denen die Abscheidung der verschiedenen Proteine durch Alkohol, bezw. Aceton erfolgt. So fällt G. PROKA[19] das Globulin aus kleinen Serummengen in der folgenden Weise: 2 ccm Serum werden mit 5 ccm 80%igem Alkohol versetzt. Der Niederschlag wird sofort auf ein doppeltes Faltenfilter, das zuvor mit 25%igem Alkohol ausgewaschen worden war, gebracht und mit destilliertem Wasser gewaschen. Zur weiteren Verarbeitung wird der Niederschlag vom Filter mit physiologischer Kochsalzlösung gelöst. A. ARCAND[20], der die zuerst von M. PIETTRE und A. VILA[21] angegebene „Acetonmethode" überprüfte, gibt nachstehende Vorschrift an: 5 bis 6 ccm Serum werden in Eis gekühlt und mit der 21-fachen Menge eiskaltem Aceton versetzt. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert, mit eiskaltem Aceton und Äther gewaschen und getrocknet. Nun wird dieser in Wasser gelöst und die Lösung so lange verdünnt, bis das Globulin ausflockt. In Proben von 0.5 ccm dieser Lösung bestimmt man durch vorsichtigen Zusatz von Salzsäure die zur vollständigen Fällung notwendige Säuremenge. Vor Fällung der Hauptmenge sättigt man die Lösung in der Kälte mit Äther. Im Filtrat vom Globulinniederschlag wird das Albumin durch Fällung mit Aceton abgeschieden. Der Verfasser hat sein Verfahren mit der Methode von P. HOWE (siehe nächsten Abschnitt) verglichen und bei normalen Seren gute Übereinstimmung erhalten. P. MERKLEN, E. LE BRETON und A ADNOT[22] verwenden zur Bestimmung der Serumeiweißfraktionen ebenfalls ein Acetontrennungsverfahren. 1 ccm Serum wird im Zentrifugenglas mit 1 ccm doppelt destilliertem Wasser versetzt, in Eis gekühlt und 8 ccm trockenes eiskaltes Aceton zugefügt. Nach dem Zentrifugieren wird die überstehende Flüssigkeit abgegossen, der Niederschlag in 2 ccm Wasser gelöst und wieder mit 10 ccm Aceton gefällt (bei Hyperlipaemie und Nephrose wird die Fällung dreimal wiederholt). Der Niederschlag wird in 10 ccm kaltem, doppelt destilliertem Wasser gelöst und in die Lösung durch 6 Minuten Kohlensäure eingeleitet. Durch Zusatz von einem Tropfen Oktylalkohol wird ein Schäumen ver-

[19] C. r. soc. biol., **90**, 721 (1924).
[20] Journ. Pharmacic, **13**, 518 (1931).
[21] Compt. rend., **170**, 1466 (1920).
[22] C. r. Soc. Biol. Paris, **107**, 758 (1931).

hindert. Durch das Einleiten von Kohlensäure stellt sich ein pu von 5,5 ein, bei welchem das Globulin vollständig ausgefällt wird. Das Albumin wird entweder im Filtrat durch Fällung mit Aceton oder aus der Differenz Gesamteiweiß minus Globulin bestimmt.

II. Kjeldahl-Methoden.

a) Fibrinogen.

Anstatt das gefällte Fibrin zur Wägung zu bringen, kann man auch dessen Stickstoffgehalt bestimmen, aus dem man durch Multiplikation mit dem Faktor 6,25 den Eiweißgehalt berechnen kann, da der Eiweißgehalt aller Eiweißarten nahezu gleich ist und ca. 16% beträgt. Bezüglich der Literatur über die Stickstoffbestimmung nach KJELDAHL sei auf das Sammelreferat von A. FRIEDRICH[23] in dieser Zeitschrift verwiesen. Nach dem obenangegebenen Prinzip arbeiten CULLEN und D. D. VAN SLYKE[24], D. P. FOSTER und G. H. WHIPPLE[25], J. BAUMANN[26] und P. E. HOWE[27]. J. CHANDLER[28] verascht das gefällte Fibrin in der FOLIN'schen Veraschungsflüssigkeit (100 ccm konzentrierte Schwefelsäure, 300 ccm 85%ige Phosphorsäure und 5 ccm 5%ige Kupfersulfatlösung), zentrifugiert die Lösung nach dem Veraschen und bestimmt in einem aliquoten Teil der klaren überstehenden Flüssigkeit den Stickstoff durch Neßlerisation.

b) Gesamteiweiß, Albumin und Globulin.

Mikrobestimmungen der Gesamtproteine in Blut und Serum werden in der Weise vorgenommen, daß zunächst der Gesamtstickstoff der Probe ermittelt wird. Dann wird durch geeignete Fällungsmittel die Lösung enteiweißt und im Filtrat der Gehalt an Nichteiweißstickstoff (Reststickstoff) bestimmt. Zur Bestimmung des Reststickstoffes wurde eine große Anzahl von Verfahren vorgeschlagen und es würde eine Aufzählung derselben weit über den Rahmen dieses Referates hinausgehen, daher sei hier nur der

[23] Mikrochemie, N. F., VII, 91 (1933).
[24] Journ. biol. Chem., 41, 587 (1920).
[25] Amer. Journ. Physiol., 58, 365 (1922).
[26] Ztschr. experim. Med., 68, 707 (1929).
[27] Journ. biol. Chem., 49, 109 (1921).
[28] Journ. lab. and clin. med., 12, 1022 (1927).

gebräuchlichsten Erwähnung getan. Nach F. PREGL (siehe diesen) fällt man das Eiweiß durch Zusatz der gleichen Menge 20%iger Trichloressigsäure zum Serum. J. BANG (siehe diesen) läßt gewogene oder gemessene Mengen Blut auf Fließpapierstreifen aufziehen und extrahiert diese mit einer Lösung von Phosphormolybdänsäure, wobei nur der Reststickstoff in Lösung geht, während die Proteine auf dem Fließpapier fixiert werden. Das Verfahren von FOLIN-WU[29] beruht auf der Fällung der Eiweißkörper durch Wolframsäure, welche beim Zusatz von äquivalenten Mengen an Natriumwolframat und Schwefelsäure zur Probe in Freiheit gesetzt wird. Die Bestimmung des Reststickstoffes erfolgt kolorimetrisch.

Die Trennung von Albumin und Globulin führen CULLEN und D. D. VAN SLYKE (siehe diese) im Differenzverfahren durch Fällung mit Trichloressigsäure und Ammonsulfat durch. Aus dem Gesamtstickstoffgehalt des Serums und dem Reststickstoffgehalt des Trichloressigsäurefiltrates ergibt sich der Gesamteiweißgehalt. Dann werden 2,5 ccm Serum mit 10 ccm Wasser verdünnt und mit 12,5 ccm gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt und nach zwölf Stunden vom Niederschlag abfiltriert. 20 ccm des Filtrates werden mit 300 ccm 50%igen Alkohols, 3 g Magnisa und 1 ccm Mineralöl versetzt und in einem KJELDAHL-Kolben so lange destilliert, bis das Destillat gegen Lakmus nicht mehr alkalisch reagiert. Der Rückstand wird dann mit Schwefelsäure verascht und der Stickstoffgehalt bestimmt. Aus der Differenz mit dem Gesamteiweißgehalt berechnet sich der Gehalt an Globulin und Albumin. Z. STARY und R. WINKONITZ[30] führen die Globulinbestimmung in 0,1 ccm Serum aus, welches mit physiologischer Kochsalzlösung 1 : 10 verdünnt und mit der gleichen Menge gesättigter Ammonsulfatlösung im Zentrifugenrohr gefällt wird. Nach dem Abzentrifugieren wird zur Entfernung des restlichen Ammonsulfats mit Trichloressigsäure gewaschen, der Niederschlag mit Schwefelsäure verascht und die Aschenlösung neßlerisiert. L. PETSCHACHER, W. BERGER und G. SCHRETTER[31] empfehlen als Standardmethode

[29] In PINCUSSEN, Mikromethoden.
[30] Ztschr. ges. exp. Med., **81**, 341 (1932).
[31] Ztschr. ges. exp. Med., **50**, 449 (1926).

zur Bestimmung von Serumeiweiß die Fällung mit Ammonsulfat mit nachfolgender Stickstoffbestimmung des durch mehrfaches Umfällen von Natriumwolframat gereinigten Niederschlages. Da die vollständige Entfernung der Ammonsulfatreste aus den Eiweißniederschlägen ziemlich umständlich ist und das Zurückbleiben von an sich geringen Mengen durch die Multiplikation mit dem Faktor 6,25 zu erheblichen Fehlern führen würde, fällen andere Untersucher das Globulin durch Sättigung mit Magnesiumsulfat, bezw. durch Halbsättigung mit Natriumsulfat. W. BERGER und L. PETSCHACHER[32] versetzen 0,5 ccm Serum mit 1,6 ccm 0,5%iger Kochsalzlösung und sättigen die Lösung mit Magnesiumsulfat. Der Niederschlag wird dreimal mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung gewaschen, auf dem Filter durch 30 Minuten langes Erhitzen auf 110° im Trockenschrank koaguliert, dann mit destilliertem Wasser gewaschen und der Niederschlag mit dem Filter nach KJELDAHL, in der Mikromodifikation von J. BANG (siehe diesen), verbrannt. Nach GUTZEIT[33] werden je 10 ccm einer Serumverdünnung 1 : 49 auf 30° erwärmt und die eine Probe mit der gleichen Menge gleichwarmer gesättigter Natriumsulfatlösung versetzt, während die andere noch durch Hinzufügen von gepulvertem Natriumsulfat gesättigt wird. Die gewaschenen Niederschläge werden nach PREGL verbrannt. R. FÅHRÄUS[34], der nach der BANG'schen Methodik arbeitet, extrahiert das auf Fließpapier aufgesaugte Serum mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung, wobei das Globulin am Filter zurückbleibt. Im Filtrat wird das Albumin mit Phosphormolybdänsäurelösung gefällt. Dann wird in beiden der Stickstoffgehalt bestimmt. Durch Fällung mit Natriumsulfatlösungen verschiedener Konzentration bei 37° trennt P. E. HOWE[35] die einzelnen Globulinfraktionen des Serums. Je 0,5 ccm des Serums werden mit 15 ccm einer 14%igen, 18%igen und 22,2%igen Natriumsulfatlösung und einem Kriställchen Thymol (zur Verhinderung der Fäulnis) bei 37° versetzt und im gut verschlossenen Röhrchen 3 Stunden bei dieser Temperatur stehen-

[32] Ztschr. ges. exp. Med., **36**, 258 (1923).

[33] Ztschr. ges. exp. Med., **39**, 397 (1924).

[34] In BANG, Mikromethoden zur Blutuntersuchung. Verlag. J. F. Bergmann, München.

[35] Journ. biol. Chem., **49**, 109 (1921).

gelassen. Sodann wird filtriert und in je 5 ccm des Filtrates eine Stickstoffbestimmung vorgenommen. Entsprechend den steigenden Natriumsulfatkonzentrationen werden Euglobulin, Pseudoglobulin + Euglobulin, und Gesamtglobulin ausgefällt. Ihr Gehalt wird aus den Differenzen berechnet. Gegen die Magnesiumsulfat- und Natriumsulfatmethoden wurde von W. STARLINGER und K. HARTL (siehe diese) der Einwand erhoben, daß sich ihre Resultate mit denen der Ammonsulfatmethode nicht decken. O. ARND und E. A. HAFNER (siehe nächsten Abschnitt) finden beim refraktometrischen Vergleich der Ammonsalz- und Natriumsulfatfällung gute Übereinstimmung.

III. Refraktometrische, interferometrische und kombinierte refraktometrische und viskosimetrische (Viskosirefraktometrie) Methoden.

Die refraktometrische Methode beruht auf der Ermittlung des den Eiweißkörpern zukommenden Refraktionsanteiles im Serum, wobei angenommen wird, daß einerseits die Gesamtrefraktion sich aus der Summe der Teilrefraktionen zusammensetzt und anderseits dem Gesamteiweiß, bezw. den einzelnen Eiweißfraktionen eine einheitliche und konstante Refraktion zuzuschreiben sei. Die Messung erfolgt im Eintauchrefraktometer nach PULFRICH, und zwar für Mikrobestimmungen unter Verwendung des Zusatzprismas. Die Interferometrie beruht ebenfalls auf der Bestimmung des Brechungsvermögens, wobei die Verwendung des Interferometers eine genauere Ablesung ermöglicht. Die kombinierte Viskosirefraktometrie beruht auf der Annahme eines gewissen gesetzmäßigen Zusammenhanges zwischen Refraktion und Viskosität, welch letztere vornehmlich vom Globulingehalt des Serums beeinflußt werden soll. Durch Eintragung der gemessenen Werte für Refraktion und Viskosität in ein Koordinatensystem gelangt man zum Schnittpunkt von Kurven, die den Albumin-Globulin-Quotienten angeben. Die Kurven werden durch refrakto-viskosimetrische Untersuchung von bekannten Albumin-Globulin-Mischungen erhalten.

a) Bestimmung des Fibrinogens.

Refraktometrische Verfahren zur Bestimmung werden von W. Starlinger[36] und G. Leendertz und B. Gromelski[37] angegeben. S. Somogyi[38], der das letztere Verfahren als raschestes und einfachstes Bestimmungsverfahren empfiehlt, gibt auf Grund seiner Untersuchungen einen neuen Umrechnungsfaktor für Fibrinogen an.

b) Gesamteiweiß, Albumin, Globulin.

Die refraktometrische Bestimmung des Gesamteiweißes im Serum wurde zuerst von E. Reiss[39] angegeben. Bei dieser Methode wird nur die Refraktion des Vollserums bestimmt, da angenommen wird, daß der Wert der Refraktion der Nichteinweißkörper annähernd konstant bleibt. Zur Berechnung des Eiweißgehaltes aus der Refraktion wurden vom Verfasser Tabellen angegeben. Ein refraktometrisches Verfahren zur Ermittlung der Serumeiweißfraktionen wurde vom B. Robertson[40] ausgearbeitet. Zu deren Bestimmung werden folgende Werte bestimmt: 1. Die Refraktion des Vollserums; 2. die Refraktion des doppelt mit destilliertem Wasser verdünnten Filtrates der Ammonhalbsättigungsfraktion; 3. die Refraktion der mit destilliertem Wasser vierfach verdünnten, zur Fällung verwendeten Ammonsulfatlösung und schließlich 4. die Refraktion des durch Versetzen mit der gleichen n/25-Essigsäure und Aufkochen enteiweißten Serumfiltrates. Aus diesem läßt sich dann der Albumin- und Globulingehalt berechnen. E. Reiss[41] wendet gegen dieses Verfahren ein, daß bei der Essigsäurefällung auch Nichteiweißkörper mitgerissen werden und daß bei der Ammonsulfatfällung mit dem Globulin auch labile Albumine gefällt werden und daß schließlich die Temperaturkonstanz nicht berücksichtigt werde. W. Starlinger und K. Hartl (siehe diese) empfehlen, die beiden refraktometrischen Eiweißbestimmungsmethoden nur dann anzuwenden, wenn es sich entweder um orien-

[36] Biochem. Ztschr., **143**, 179 (1923).
[37] Arch. exp. Pathol. Pharmakol., **96**, 305 (1923).
[38] Ztschr. ges. exp. Med., **53**, 851 (1927).
[39] Arch. exp. Pathol. Pharmakol., **51**, 19 (1904).
[40] Journ. biol. Chem., **11**, 179 (1923).
[41] Siehe Abderhaldens Handbuch d. biol. Arbeitsmethoden. 1923. Lief. 106.

tierende Untersuchungen handelt oder sehr große Ausschläge zu erwarten sind. Nach W. BERGER und L. PETSCHACHER ist die refraktometrische Methodik für klinische Zwecke geeignet, und O. ARND und E. A. HAFNER[42] berichten, daß diese für alle Zwecke, bei denen keine größere Genauigkeit als 0,3 bis 0,5% verlangt wird, anwendbar ist. D. VON DESEO[43] gibt für die Untersuchung von Pferdeserum neue Konstanten an und empfiehlt die refraktometrische Methodik wegen ihrer Einfachheit als Kontrollmethode. Nach F. GRENDEL[44] liefert die Methode von ROBERTSON nur annähernde Werte. G. LEENDERTZ[45] gibt eine refraktometrische Methode zur Bestimmung der labilen Serumglobuline an. Er bestimmt zunächst die Refraktion des Serums und fällt dann 1 ccm Serum mit 10 ccm 0,25%iger Essigsäure in einem Zentrifugenrohr, das bei 0,5 ccm eine Marke trägt, und zentrifugiert ab. Die überstehende Flüssigkeit wird bis zur Marke 0,5 ccm abgezogen, davon wird 1 ccm mit 1 ccm Serum gemischt und die Refraktion bestimmt. Der Rückstand im Zentrifugenrohr wird in 1 ccm Serum gelöst und ebenfalls der Brechungswert bestimmt. Aus den gewonnenen Werten läßt sich das Globulin berechnen. Ein interferometrisches Verfahren, dessen Ausführung im wesentlichen der Methode von ROBERTSON entspricht, geben HIRSCH und KOCHLER[46] an, welches auch von GUTZEIT (siehe diesen) angewendet wurde. W. J. DIECKMANN[47] tritt ebenfalls für die Anwendung des Interferometers ein. Die kombinierte Refraktometrie und Viskosimetrie wurde von NAEGELI[48] angeregt und die Methodik von F. ROHRER[49] ausgearbeitet. Auf die Einwände von F. WANNER[50], der unter gewissen Bedingungen größere Abweichungen im Albumin-Globulin-Quotienten findet, entgegnet der Verfasser, daß sein Verfahren nur für Verhältnisse ausgearbeitet worden sei, bei

[42] Biochem. Ztschr., **167**, 440 (1926).
[43] Biochem. Ztschr., **238**, 104 (1931).
[44] Pharmac. Weekbl., **1931**, I, 1.
[45] Biochem. Ztschr., **167**, 411 (1926).
[46] Fermentforschung, **6**, 1 (1922).
[47] Journ. Labor. and clin. Med., **16**, 513 (1931).
[48] Kongr. f. inn. Med. 1913.
[49] Deutsche klin. Med., **121** (1917); Schweiz. med. Wochenschr., **52**, 555 (1922).
[50] Schweiz. med. Wochenschr., **52**, 485 (1922).

denen außer der Eiweißkonzentration im Serum keine wesentlichen Veränderungen auftreten. Nicht anwendbar sei die Methode nur bei Urämie und Hyperglykämie. W. Berger und L. Petschacher (siehe diese) finden beim Vergleich mit anderen Methoden bei normalen Seren zur Übereinstimmung bei pathologischen Seren mit großer Regelmäßigkeit zum Teil sehr stark erhöhte Globulinwerte. W. Starlinger und K. Hartl (siehe diese) finden in der Mehrzahl der Fälle Erniedrigung des Globulinwertes gegenüber dem gravimetrisch ermittelten. F. Grendel (siehe diesen) findet die Genauigkeit der Methode ungenügend.

IV. Diaphanometrische und nephelometrische Methoden.

Die Grundlage dieser Methoden beruht darauf, daß in den zu untersuchenden, entsprechend verdünnten Lösungen durch Zusatz geeigneter Eiweißfällungsmitteln eine Trübung erzeugt wird, die, wenn nötig, noch durch Zusatz von Schutzkolloiden stabilisiert werden kann. Aus der Stärke der Trübung, die mit der von Eiweißlösungen bekannter Konzentration verglichen wird, läßt sich Eiweißgehalt berechnen. Die Bestimmung kann je nach der gewünschten Genauigkeit in verschiedener Weise erfolgen. Bei der Diaphanometrie vergleicht man die Trübungsintensität mit freiem Auge, indem man die Lesbarkeit einer dahinter gehaltenen Druckschrift prüft. Genauere Messungen erfolgen im Kolorimeter. C. Cheveneau und R. Audubert[51] berichten über einen Apparat, das sogenannte „Opacimeter", bei welchem die Trübung der zu untersuchenden Lösung mit einem dunkelgefärbten Glaskeil verglichen wird. Dieser wird solange verschoben, bis beide Gesichtsfelder gleiche Helligkeit zeigen. Eine weitere Verfeinerung der Messung bieten die verschiedenen „Nephelometer", bei denen die Messung im abgebeugten Licht erfolgt. Das bekannteste Instrument dieser Art ist das Nephelometer von Kleinmann. St. Ruszniak[52] berichtet über einen auf Grund seiner Anregung hergestellten Zusatzteil zum „Chromophotometer" nach Plesch, durch den dieses, ebenso wie der Apparat von Kleinmann, verwendet werden kann. A. Boudoin und H. Benard[53] haben ebenfalls ein dem

[51] C. r., **170**, 728 (1920).

[52] Biochem. Ztschr., **133**, 365 (1922).

[53] Bull. et mem. de la soc. med. des hôp. Paris, **38**, 332 (1922).

Kleinmann'schen ähnliches Instrument konstruiert. W. G. Exton und A. R. Rose[54] verwenden einen Apparat mit photoelektrischer Meßeinrichtung, das sogenannte „Skopometer". Besonders vorteilhaft läßt sich für nephelometrische Bestimmungen das Stufenphotometer von Pulfrich, bei dem der Vergleich gegen einen geeichten Trübungsglaskörper stattfindet, verwenden.

a) Bestimmung des Fibrinogens.

Fibrinogen wird nach St. Ruszniak und I. Barat[55] nephelometrisch aus der beim Versetzen von 0,1 ccm Plasma mit 25 ccm einer zu 27% gesättigten Ammonsulfatlösung entstehenden Trübung bestimmt.

b) Bestimmung von Gesamteiweiß, Albumin und Globulin.

Vorwiegend für klinische Zwecke wurde eine Reihe von diaphanometrischen Methoden ausgearbeitet, die sich durch große Einfachheit und rasche Durchführbarkeit auszeichnen. So berichten M. Bloch und M. Pomaret[56] über eine solche Methode zur schnellen Eiweißbestimmung, bei der die Trübung durch Zusatz von Salpetersäure erzielt wird; als Vergleichsskala wird eine stabile Benzoeemulsion verwendet. Diese wird nach der von ihnen angegebenen Weise wie folgt hergestellt. Zu heißer Glyceringelatine (40 g Gelatine werden in 125 g Glycerin und destilliertem Wasser zu 200 ccm gelöst) wird eine Benzoeemulsion (1 ccm Benzoetinktur und 4 ccm Quillajatinktur werden mit destilliertem Wasser auf 20 ccm aufgefüllt) in wechselnden Mengen zugesetzt, so daß das Gesamtvolumen 2 ccm beträgt. Nach dem Erkalten kommt in jedes Röhrchen ein Tropfen 40%iges Formol zur Konservierung. Zur Untersuchung werden 2 ccm der zu untersuchenden, entsprechend verdünnten Probe mit 6 Tropfen Salpetersäure versetzt und mit der empirischen Trübungsreihe verglichen. Die Ablesung geschieht nach 5 Minuten. E. Nador-Nikititch[57] gibt eine dia-

[54] Journ. biol. Chem., **97**, XVIII (1932).
[55] Biochem. Ztschr., **141**, 476 (1923).
[56] C. r. soc. biol., **84**, 354 (1921).
[57] C. r. soc. biol., **92**, 254 (1925).

phanometrische Globulinbestimmung im Liquor an. Von einem Serum, dessen Globulingehalt mittels Magnesiumsulfatfällung nach KJELDAHL bestimmt wurde, werden zehn verschiedene Verdünnungen mit einem Gehalt von 0,1 bis 1,0‰ Globulin hergestellt. Von diesen werden je 2 Tropfen in ein mit 1 ccm Karbolsäure (10 : 150) gefülltes Röhrchen von 10 mm Durchmesser gebracht. Die Röhrchen werden nun zugeschmolzen und bilden die Vergleichsskala. Zur Bestimmung bringt man in ein gleich weites Röhrchen 1 ccm Karbolsäure und 2 Tropfen Liquor und vergleicht die Trübung. W. MESTREZAT[58] verwendet folgendes Verfahren: 2 ccm der eiweißhaltigen Flüssigkeit werden auf kleiner Flamme bis fast zum Sieden erhitzt und dann mit 4 Tropfen Trichloressigsäurelösung (20 Tropfen 20%iger Trichloressigsäure in 40 ccm Wasser) versetzt. Die entstandene Trübung wird mit Teströhrchen von gleicher Opazität verglichen, indem man die Lesbarkeit einer dahintergehaltenen Druckschrift vergleicht. Zur Herstellung der Standardlösung werden zwei Eiklar mit demselben Volum 0,8%iger Kochsalzlösung zu Schnee geschlagen, dann das dreifache Volum der Kochsalzlösung hinzugefügt und filtriert. 23 ccm des Filtrates (ungefähr 0,5 g Eiweiß) werden auf 500 ccm aufgefüllt und dann davon Verdünnungen hergestellt, welche 0,1 bis 0,6 mg in 2 ccm enthalten; diese werden in Röhrchen von 10 mm lichter Weite gebracht und in gleicher Weise wie die Probe behandelt. Im zugeschmolzenen Röhrchen soll sich dieser Standard 3 bis 5 Jahre unverändert halten. W. G. EXTON[59] gibt ein Schnellverfahren zur quantitativen Eiweißbestimmung im Harn an. Er beobachtet die Trübung, die durch Zusatz der gleichen Menge 5%iger Sulfosalicylsäure entsteht, und findet, daß durch Zusatz von Bromphenolblau der gleiche Dispersitätsgrad längere Zeit erhalten bleibt und der Farbunterschied zwischen Harnprobe und Eiweißstandard möglichst vermindert wird. Durch Zusatz von Gummi arabikum wird die Stabilität weiter erhöht. Sein Reagens enthält 50 g Sulfosalicylsäure, 10 g Natriumsulfat und 25 ccm Bromphenolblaulösung im Liter. Zur Durchführung der Bestimmung werden 2 bis 3 ccm Harn mit der gleichen Menge Reagens erwärmt, ohne bis zum Sieden zu erhitzen. Die Trübung wird mit einer in

[58] Bull. soc. chim. biol., **6**, 694 (1924).

[59] Journ. lab. and clin. med., **10**, 722 (1925).

gleicher Weise behandelten Verdünnungsreihe von Serum verglichen. Die Serumverdünnungen erhalten zur Stabilisierung einen Zusatz von 0,5% Gummiarabikum. M. CUSTER[60] empfiehlt zur besseren Ablesbarkeit von Trübungen, die Röhrchen gegen ein schwarzes Samtband zu halten.

Genauer als die bisher besprochenen diaphanometrischen Methoden sind die nephelometrischen. Auch sie sind rasch und einfach durchzuführen. Da in neuerer Zeit eine Anzahl von Firmen billigere Instrumente und Zusatzteile zu Kolorimetern auf den Markt bringt, dürften diese Methoden immer mehr an Bedeutung gewinnen. RONA und KLEINMANN[61], die eine Reihe von nephelometrischen Mikromethoden geschaffen haben, führten auch eine Methode zur Bestimmung von Serumeiweiß aus. Dabei wird das 1 : 100 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnte Serum mit der gleichen Menge an 25%iger Salzsäure und der doppelten Menge Sulfosalicylsäure versetzt. Die entstehende Trübung bleibt eine Stunde lang homogen. Die untere Grenze des Nachweises liegt bei 0,003%. W. DENIS und J. B. AYER[62] bestimmen Eiweiß im Liquor, indem sie 0,6 ccm Liquor mit 0,4 ccm Wasser und 1 ccm 5%iger Sulfosalicylsäure versetzen. Nach 5 Minuten wird gegen eine ebenso behandelte Standardlösung (20 ccm Serum werden mit der zehnfachen Menge 15%iger Kochsalzlösung versetzt, die Lösung filtriert und im Eisschrank aufbewahrt) nephelometriert. ST. RUSZNIAK[63] gibt ein Mikroverfahren zur Bestimmung der Eiweißfraktionen im Blutplasma an. Zur Bestimmung des Gesamteiweißgehaltes wird 0,1 ccm Citratplasma mit 50 ccm saurer Ammonsulfatlösung (gleiche Teile von gesättigter Ammonsulfatlösung und n/5-Salzsäure) versetzt. Diese getrübte Lösung dient als Standard; der absolute Wert wird durch Refraktion oder nach KJELDAHL bestimmt. Weitere 0,1 ccm Plasma werden mit 25 ccm halbgesättigter Ammonsulfatlösung versetzt; die Trübung entspricht dem enthaltenen Globulin und Fibrinogen. Dann werden je 0,4 ccm Plasma mit 25 ccm einer drittelgesättigten Ammonsulfatlösung, bezw. 25 ccm einer zu 27% gesättigten Ammonsulfat-

[60] Münch. med. Wochenschr., **73**, 1324 (1926).
[61] Biochem. Ztschr., **140**, 467 (1923).
[62] Arch. internal. med., **26**, 436 (1920).
[63] Biochem. Ztschr., **141**, 479 (1923).

lösung versetzt, woraus sich der Gehalt an Euglobulin plus Fibrinogen und Fibrinogen ergibt. J. C. SCHIPPERS[64] bemerkt zu vorstehender Methodik, daß infolge der verschiedenen Reaktion in den einzelnen Proben ungleichmäßige Flockung eintrete und wegen des verschiedenen Dispersitätsgrades die beiden Gesichtsfelder im Nephelometer nicht gleich gefärbt seien. Diese Meinung vertritt auch SALOMON[65]. H. BENARD und A. LABORDE[66] untersuchen die Eiweißtrübung mit Trichloressigsäure mit Hilfe der „diffusimetrischen" (Beobachtung im abgebeugten Licht) und der „opazimetrischen" (Beobachtung im durchfallenden Licht) Methode. Zur Messung verwenden sie die Instrumente nach CH. CHEVENEAU und R. AUDUBERT (siehe diese) und nach A. BAUDOIN und H. BENARD (siehe diese). Sie finden bei der „diffusimetrischen" Methode Proportionalität zwischen 0,8 bis 0,1‰ Eiweiß und bei der „opazimetrischen" Methode zwischen 1,5 bis 0,5‰. Albumin und Globulin haben bei verschiedenen Trichloressigsäurekonzentrationen ihr Trübungsmaximum. Auf Grund dieser Untersuchungen geben A. GILBERT, H. BENARD und A. LABORDE[67] ein Verfahren zur Bestimmung kleiner Eiweißmengen an. 0,5 ccm der zu untersuchenden ungefähr 0,1%igen Eiweißlösung werden mit 9,5 ccm Trichloressigsäure von passender Konzentration versetzt. Die Trübungsstärke ist bei kleinen Eiweißkonzentrationen dem Gehalt proportional. Temperatur und Kochsalzgehalt scheinen keinen Einfluß zu haben. Dagegen sind von Einfluß: die Zeit, die seit der Fällung vergangen ist, und die Konzentration der Trichloressigsäure. Die Kurven für Albumin und Globulin sind nicht identisch, kreuzen sich aber bei einem Gehalt von 30% Trichloressigsäure, so daß unter diesen Verhältnissen auch der Gesamteiweißgehalt des Blutes bestimmt werden kann. F. D'ARBELA und L. ROSELLI[68] verwenden auch das Nephelometer von A. BAUDOIN und H. BENARD. J. AVILLAR DE LOUREIRO[69] berichtet über ein Verfahren, bei dem ein Teil einer Serumverdünnung 1 : 50 mit neun

[64] Monatsschr. f. Kinderheilkunde, **40**, 521 (1928).
[65] Ztschr. klin. Med., **99**, 35 (1924).
[66] C. r., **176**, 98 (1923).
[67] C. r. soc. biol., **89**, 311 (1923).
[68] Diagnost. e Tecnica Labor, **2**, 829 (1931).
[69] C. r. Soc. Biol. Paris, **104**, 919 (1930).

Teilen Gelatinelösung (25%ige Lösung von Gelatine in sechstelgesättigter Ammonsulfatlösung oder in viertelgesättigter Magnesiumsulfatlösung) zu vermischen und mit einem Puffer auf das gewünschte pH zu bringen ist. Nach 10 Minuten langem Erhitzen bei 50° im Wasserbad läßt man abkühlen und dispergiert durch kräftiges Schütteln. A. FISCHER[70] bestimmt das Globulin in einem Tropfen Serum, welches nach Verdünnung mit 10 ccm Wasser mit 0,1 bis 0,2 ccm primärer Kaliumphosphatlösung versetzt wird. Die entstandene Trübung wird im Stufenphotometer nach PULFRICH gemessen. H. HARTOCH[71] verwendet ebenfalls diese Methode. A. BELÁK und ST. GÄRTNER[72], die gleichfalls das Stufenphotometer verwenden, versuchen eine Fraktionierung des Serumeiweißes durch steigenden Alkoholzusatz. Sie finden, daß die Trübung mit steigender Alkoholkonzentration linear zunimmt. W. G. EXTON und A. R. ROSE (siehe diese) fällen zur Bestimmung der einzelnen Eiweißfraktionen Proben von 1 : 5 verdünntem Plasma mit Ammonsulfatlösungen verschiedener Konzentration. Die Niederschläge werden dann in halbgesättigter Kochsalzlösung gelöst und durch Zusatz des gleichen Volums an Sulfosalicylsäure ausgeflockt. Die Bestimmung wird mit Hilfe des photoelektrischen „Skopometers" durchgeführt.

V. Kolorimetrische Methoden.

Eine kolorimetrische Methode, welche auf der Eigenschaft der Proteine, Farbstoffe aus deren Lösung zu adsorbieren, beruht, wird von S. M. ROSENTHAL und F. D. ACKMANN[73] mitgeteilt. Ihr Verfahren beruht auf der Bindung des Farbstoffes „Rose bengal" (Tetrachlortetrajodfluorescein) an Eiweiß. Dieser Farbstoff verliert in wässeriger Lösung bei einem pH von unter 2.2 seine rote Färbung. Bei Gegenwart von Eiweiß behält der daran gebundene Anteil seine ursprüngliche Farbe. Auf diese Weise läßt sich Albumin noch in einer Verdünnung von 1 : 4,000.000 nachweisen. Aminosäuren, Biuret, Asparagin und Kohlehydrate geben diese

[70] Biochem. Ztschr., **240**, 364 (1931).
[71] Klin. Wochenschr., **1932**, II, 1706.
[72] Ztschr. ges. exp. Med., **70**, 16 (1930).
[73] Journ. pharmac. and exper. therap., **29**, 521 (1926).

Reaktion nicht. Hingegen üben Neutralsalze einen großen Einfluß auf die Reaktion aus. Zur Bestimmung von Eiweiß im Liquor geben die Autoren folgende Vorschrift an: 1 ccm Liquor wird mit destilliertem Wasser auf 25 ccm aufgefüllt. Davon werden je 10 ccm, 5 ccm, 2,5 ccm und 1 ccm in ein Röhrchen gebracht und jedes auf 10 ccm aufgefüllt. Dann wird in jedes Röhrchen 1 ccm 0,02%ige Lösung von Rose bengal und nach dem Umschütteln 1 ccm n/10-Salzsäure zugegeben. Nach weiterem Schütteln wird im Kolorimeter gegen 1 : 10 verdünnte Rose-bengal-Lösung als Standard kolorimetriert. Andere kolorimetrische Methoden beruhen auf Farbreaktionen der Eiweißkörper, bezw. bestimmter Komponenten des Eiweißmoleküls. Wu Hsien[74] bestimmt die einzelnen Eiweißfraktionen nach ihrer Trennung mittels der Methode von Cullen und Van Slyke (siehe diese), indem er die in 1%iger Natronlauge gelösten Niederschläge mit dem Phenolreagens (100 g Natriumwolframat und 25 g Natriummolybdat werden in 700 ccm Wasser gelöst, dann 50 ccm 85%ige Phosphorsäure und 100 ccm konzentrierte Salzsäure zugesetzt; nach achtstündigem Kochen am Rückflußkühler wird auf ein Liter aufgefüllt) versetzt und die entstandene Blaufärbung kolorimetriert. Als Standard dient eine Thyrosinlösung. 1 mg Thyrosin entspricht 25,2 mg Globulin und 27,5 mg Albumin. In einer folgenden Arbeit berichtet der Verfasser dann gemeinsam mit Schmorl M. Ling[75] über einige Verbesserungen der Methode. Über kleine Abänderungen der Methode berichten Ph. Matz und N. Nowick[76], A. Hijmann[77] und D. M. Greenberg[78]. Eine Methode, welche auf der quantitativen Auswertung der Xanthoproteinreaktion beruht, stammt von R. Margaria[79]. 1 ccm der zu untersuchenden Lösung wird mit 1 ccm Salpetersäure von der Dichte 1,4 versetzt und eine Minute gekocht. Nach dem Abkühlen wird tropfenweise Ammoniak hinzugefügt, wobei sich die Lösung klärt und bei einem Gehalt von mehr als 5 mg Eiweiß in der Probe ein weißlicher Niederschlag ausfällt,

[74] Journ. biol. Chem., **51**, 33 (1922).
[75] Chinese journ. of physiol., **1**, 161 (1927).
[76] Journ. lab. and clin. med., **15**, 370 (1930).
[77] Acta neerl. Physiol., **2**, 195 (1932).
[78] Journ. biol. Chem., **82**, 545 (1929).
[79] Arch. szienze biol., **9**, 305 (1927).

der aber beim weiteren Zusatz von Ammoniak verschwindet, sobald die Lösung alkalisch geworden ist. Man füllt dann auf 10 ccm auf und vergleicht gegen eine in gleicher Weise behandelte Thyrosinstandardlösung. Bei Anwendung dieser Methode auf die Eiweißbestimmung im Harn ist zu berücksichtigen, daß auch andere Bestandteile des Harns die Xanthoproteinreaktion geben. In diesem Falle führt man die Bestimmung im nativen und im enteiweißten Harn durch und berechnet die Differenz. Eine kolorimetrische Eiweißbestimmung auf Grund der EHRLICH'schen Diazoreaktion wird von CHEN CHAO CHI[80] angegeben. Nach seinen Angaben soll die Methode brauchbare Werte liefern, wenn der Eiweißgehalt des Standards und der der zu untersuchenden Lösung ungefähr gleich sind und wenn der Standard nicht mehr als 10 mg Eiweiß enthält. Das Reagens soll zu beiden zur gleichen Zeit hinzugefügt und der kolorimetrische Vergleich nicht später als nach 30 Minuten durchgeführt werden. A. FISCHER[81] empfiehlt zum Nachweis der Globulinvermehrung im Serum, eine Bestimmung des Tryptophans vorzunehmen. Er begründet diesen Vorschlag mit dem verschiedenen Gehalt des Albumins und Globulins an Tryptophan, und zwar enthält das Albumin des menschlichen Blutserums 1,4%, während das Globulin 2,9% Tryptophan enthält. Der Tryptophangehalt des Serums beträgt im Durchschnitt 2,4% und schwankt unter physiologischen Bedingungen zwischen 1,9 und 2,6%. Tryptophanwerte von mehr als 2,8% werden nicht mehr als Globulinvermehrung, sondern durch Annahme einer Veränderung der chemischen Struktur der Serumeiweißkörper erklärt. J. M. LOONEY[82] schlägt eine Methode zur Bestimmung von Albumin und Globulin auf Grund ihres verschiedenen Gehaltes an Tyrosin und Cystin vor. Ein Zentrifugenröhrchen wird mit 10 ccm Metaphosphorsäure beschickt und 2 ccm Serum hinzugegeben. Nach 10 Minuten wird zentrifugiert und der Niederschlag nochmals mit 10 ccm Metaphosphorsäure gewaschen. Dann wird er in 2,5 ccm 14/n-Schwefelsäure gelöst und 3 Stunden im Autoklaven bei 130° hydrolisiert. Nachher wird auf 10 ccm aufgefüllt und in

[80] Transact of the 6. congr. of the Far Eastern assoc. of trop. med. Tokyo, **1**, 1107 (1926).

[81] Ztschr. klin. Med., **110**, 224 (1929).

[82] Journ. biol. Chem., **97**, XXVI (1932).

je 5 ccm eine Bestimmung von Tyrosin und Cystin vorgenommen. Zur Berechnung aus diesen Werten gibt der Verfasser folgende Formeln an:

$$\text{Globulin} = 1{,}62\ \text{Tryptophan} - 1{,}25\ \text{Cystin}.$$

$$\text{Albumin} = 1{,}79 \cdot \frac{\text{Cystin}}{\text{Tryptophan}} - 0.187\ \frac{\text{Tryptophan}}{\text{Cystin}}.$$

VI. Sedimetrische Methoden.

Eine sedimetrische Bestimmung des Fibrinogens wurde von K. SAMSON[83] angegeben. Die Durchführung dieser Methode geschieht in der Weise, daß 0,5 ccm Plasma in einem Zentrifugenrohr, dessen unterer Teil kapillar verjüngt ist, mit 0,1 ccm versetzt wird. Die Kapillare trägt eine Skala, von der ein Teilstrich einem Volumen von 0,02 ccm entspricht. Das Röhrchen wird nun 5 Minuten auf 55° im Wasserbad erwärmt und sodann zentrifugiert. Aus der Höhe der abgelesenen Niederschlagssäule wird dann der Fibrinogengehalt berechnet. Vergleichende Untersuchungen des Verfassers mit der KJELDAHL-Methode zeigen gute Übereinstimmung. K. SAMSON[84] hat sich auch mit der sedimetrischen Mikroeiweißbestimmung eingehend beschäftigt und auf Grund von physikalischen Überlegungen ihr Prinzip und ihre Fehlerquellen abgeleitet. Er kommt dabei zu folgenden Ergebnissen. Zur Erzielung von guten und gleichmäßigen Werten muß: 1. der Durchmesser der Niederschlagsteilchen immer gleich groß sein. Dies wird nach seinen Untersuchungen bei Verwendung von ESBACH's Reagens als Fällungsmittel erreicht, dabei muß die Probe vor dem Zentrifugieren gut aufgeschüttelt werden, und es ist zwischen der Fällung und dem Zentrifugieren immer die gleiche Zeit einzuhalten; 2. das spezifische Gewicht der abgeschiedenen Teilchen und das spezifische Gewicht der überstehenden Flüssigkeit immer konstant sein; 3. Tourenzahl und Durchmesser der Zentrifuge immer gleich sein, ebenso die Dauer des Zentrifugierens; 4. die Viskosität konstant sein. Diese Forderung findet er ebenfalls bei ESBACH's Reagens erfüllt; 5. die Temperatur einigermaßen kon-

[83] Med. Klinik, **24**, 217 (1928).
[84] Biochem. Ztschr., **208**, 262 (1929).

stant sein; 6. auf ein konstantes Verhältnis zwischen Höhe und Breite des graduierten Teiles des Röhrchens geachtet werden. Die zu bestimmende Eiweißmenge hat eine Grenze nach oben. Ist bei Einhaltung der obengeschilderten Forderungen keine Proportionalität zu erhalten, so muß eine Eichkurve angelegt werden, aus der dann die korrigierten Werte abzulesen sind. J. KIKUZIRO[85] bestimmt Eiweiß im Harn sedimetrisch durch Fällung mit ESBACH's Reagens und berichtet über ein für diesen Zweck besonders konstruiertes Zentrifugenröhrchen. Bei der Fällung von Eiweiß im Harn ist nach H. SCHULTEN[86] darauf zu achten, daß dieser sauer reagiere, weil oberhalb von pH 7,6 das Eiweiß durch ESBACH's Reagens nicht vollständig ausgeflockt wird. Zur Eiweißbestimmung im Harn und in anderen Körperflüssigkeiten empfehlen M. C. SHEVKY und D. D. STAFFORD[87] ein sedimetrisches Verfahren. 8 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit werden mit 5 ccm TSUCHIYA-Reagens (15 g Phosphorwolframsäure und 5 ccm konzentrierte Salzsäure werden mit 96%igem Alkohol auf 100 ccm aufgefüllt) überschichtet und nach dem Verschließen mit einem dicht sitzenden Stopfen gut durchgeschüttelt. Man läßt eine Minute stehen und zentrifugiert dann eine Viertelstunde bei 1800 Touren. 0,1 ccm des Sedimentes entspricht 0,036% Eiweiß in der untersuchten Flüssigkeit. Bei genauer Einhaltung der Vorschrift sollen die Werte denen des KJELDAHL-Verfahrens entsprechen. Eine Eiweißbestimmung im Liquor wird von C. R. BAUER und H. P. SCHENK[88] mitgeteilt und ein für diesen Zweck konstruiertes Sedimentierröhrchen beschrieben.

VII. Maßanalytische Methoden.

Zur Bestimmung kleiner Mengen von Eiweiß sind eine Anzahl von oxydimetrischen Verfahren in Gebrauch, bei denen das auf irgendeine Weise abgeschiedene Eiweiß mit einer gemessenen überschüssigen Menge von Kaliumpermanganat oder Kaliumbichromat oxydiert und der Rest des Oxydationsmittels zurücktitriert wird.

[85] Journ. of Biochem., **12**, 7 (1930).
[86] Klin. Wschr., **1929**, I, 446.
[87] Arch. internat. med., **32**, 222 (1925).
[88] Journ. Labor. and clin. Med., **16** (1931).

So berichtet Th. von Fellenberg[89] über ein Verfahren zur Bestimmung von organischen Stoffen durch Chromsäureoxydation, das von ihm auch zur Eiweißbestimmung angewendet wird. 3 bis 6 mg Substanz werden mit 10 ccm n/10-Kaliumbichromatlösung und 20 ccm konzentrierter Schwefelsäure versetzt. Nach einer Viertelstunde wird mit Wasser verdünnt, 0,2 g Kaliumjodid zugesetzt und das ausgeschiedene Jod mit Natriumthiosulfatlösung zurücktitriert. 1 ccm n/10-Kaliumbichromat entspricht 1,12 mg Eieralbumin. P. Boulanger[90] ermittelt zur Bestimmung der Serumeiweißkörper den sogenannten „Permanganatindex", das ist die Anzahl der Kubikzentimeter an n/10-Kaliumpermanganatlösung, die zur Oxydation von 1 ccm Serum verbraucht werden. Er findet zwischen dem Permanganatindex und dem nach Kjeldahl erhaltenen Eiweißwert strenge Proportionalität und hält die Methode für verläßlicher als die Refraktometrie. In einer späteren Mitteilung bringt dann der Verfasser gemeinsam mit H. Warembourg[91] eine Methode der Eiweißbestimmung durch Chromsäureoxydation. 1 ccm des 1 : 10 verdünnten Serums wird in einer Eprouvette mit 1 ccm Wasser und 10 ccm Chromsäuremischung versetzt (1 Volum n/10-Kaliumbichromatlösung und 1 Volum 50%ige Schwefelsäure). Man erhitzt eine Stunde im siedenden Wasserbad und bringt dann die Lösung in ein Kölbchen, das mit 1 ccm 50%iger Kaliumjodidlösung beschickt ist. Das ausgeschiedene Jod wird mit n/50-Natriumthiosulfatlösung titriert. In gleicher Weise wird im Leerversuch der Bichromatverbrauch bestimmt. Die Differenz aus dem im Haupt- und Leerversuch verbrauchten Kaliumbichromat wird mit 5 multipliziert und dieser Wert „Chromatindex" des Serums genannt. Wie die Verfasser angeben, ist der Chromatindex eine lineare Funktion des Eiweißgehaltes des Serums, und zwar entsprechen 15 Chromatindexeinheiten 3,2 g Eiweiß in 100 ccm Serum. Die von den Nichteiweißkörpern verbrauchte Chromsäuremenge kann vernachlässigt werden. Die Fehlerbreite der Methode wird mit 2% angegeben. M. Polonovski, H. Warembourg und R. Cuvellier[92] führen die Bestim-

[89] Biochem. Ztschr., **188**, 365 (1927).
[90] C. r. Soc. Biol. Paris, **101**, 837 (1929).
[91] C. r. Soc. Biol. Paris, **106**, 958 (1931).
[92] C. r. Soc. Biol. Paris, **109**, 673 (1932).

mung von Albumin und Globulin im Serum mit Hilfe dieser Methode durch. 0,1 ccm Serum wird in ein Röhrchen, das bei 1 ccm eine Marke trägt und mit 0,5 ccm gesättigter Magnesiumsulfatlösung beschickt ist, eingebracht. Dann wird mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung bis zur Marke aufgefüllt und noch 5 mg feingepulvertes Magnesiumsulfat hinzugefügt. Nach zwölfstündigem Stehen wird durch ein Glasfilter filtriert und in 0,5 ccm des Filtrates der Chromatindex bestimmt. Der Globulinniederschlag wird nach dem Waschen mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung in 1 ccm Wasser gelöst und durch das Filter 1 ccm der Chromsäuremischung nachgesaugt. In 10 ccm davon wird der Chromatindex bestimmt. W. D. Treadwell und W. Eppenberger[93] berichten über den Versuch zu einer maßanalytischen Gehaltsbestimmung von Eiweißlösungen. Das Prinzip dieser Methode ist die Bestimmung der Sättigungskapazität von Eiweißniederschlägen gegenüber einer Lösung von kolloidem Berlinerblau. Zu diesem Zwecke wird das Eiweiß mit Tannin gefällt und unter Schütteln solange Berlinerblaulösung darauf einwirken gelassen, bis, durch einen kleinen Überschuß, die überstehende Flüssigkeit blau gefärbt erscheint. 1 g Hühnereiweiß verbraucht 1,1 Millimole und 1 g Gelatine 2,3 Millimole Ferrocyanid in Form von Berlinerblau.

VIII. Diverse andere Methoden.

In diesem Abschnitt sei einer Reihe von Methoden Erwähnung getan, die sich in keinem der vorigen Abschnitte einreihen ließen. Zunächst seien einige Methoden besprochen, die darauf beruhen, daß von der zu untersuchenden Eiweißlösung eine Verdünnungsreihe angelegt und die Grenzkonzentration, bei der noch gerade positive Eiweißreaktion eintritt, ermittelt wird. So bringt E. Herzfeld[94] zur Eiweißbestimmung im Harn je 5 ccm des fünf- bis zehnfach verdünnten Harns in eine Eprouvette, setzt einen Tropfen verdünnte Essigsäure und 1 ccm 25%ige Sulfosalicylsäure zu, und sieht nach, welches Röhrchen nach 10 Minuten klar ge-

[93] Helvet. chim. act., **11**, 1053 (1928).
[94] Schweiz. med. Wochenschr., **54**, 496 (1924).

blieben ist. Das diesem vorangehende Röhrchen enthält dann 0,1 mg Eiweiß.

A. Spanier[95] verwendet zur Harneiweißbestimmung das von Joltes modifizierte Spiegler'sche Reagens (10 g Sublimat, 20 g Zitronensäure und 20 g Kochsalz werden in 500 ccm destilliertem Wasser gelöst). Von diesem Reagens werden Verdünnungen angelegt und mit 20%iger wässeriger Glycerinlösung, damit auch bei stärkerer Verdünnung das Reagens nicht spezifisch leichter als der Harn wird, versetzt. Über je 10 Tropfen der Reagenzverdünnung wird unverdünnter, mit 30%iger Essigsäure angesäuerter Harn geschichtet. Bei der entsprechenden Konzentration soll der Eiweißring nach zwei Minuten erscheinen. Eine Steigerung der Empfindlichkeit der Heller'schen Ringprobe sucht B. Lindberger[96] durch eine Modifikation dieses Reagens auf Grund von theoretischen und praktischen Überlegungen zu erzielen. Nach der Regel von Posternak tritt bei einer Eiweißfällung in saurer Lösung eine Umkehrung der Hofmeister'schen Reihe ein. Daher muß das Nitration, welches bei neutraler Reaktion die geringste flockende Kraft besitzt, in saurer Lösung am stärksten fällend wirken. Verfasser empfiehlt daher zur Ausführung der Heller-schen Ringprobe ein nach diesen Gesichtspunkten zusammengesetztes Reagens, das 250 g Natriumnitrat und 15 ccm 25%ige Salpetersäure im Liter enthält. Über eine Fibrinogenbestimmung nach dem „Verdünnungsverfahren" berichtet F. Mas y Magro[97]. 0,04 ccm Blut werden mittels einer Sahli-Pipette in ein Zentrifugenröhrchen gebracht, das 1 ccm 0,85%ige Kochsalzlösung und 0,04 ccm Ammonoxalatlösung enthält (1 g Ammonoxalat in 100 ccm 0,85%iger Kochsalzlösung). Nun wird gut durchgeschüttelt und zentrifugiert. Vom abgehobenen Plasma werden mittels Tropfglas 20 Tropfen in eine Eprouvette gebracht und bilden das erste Glied der Verdünnungsreihe. Davon werden 15 Tropfen mit 5 Tropfen 0,85%iger Kochsalzlösung verdünnt und dies in gleicher Weise fortgesetzt, bis 21 Verdünnungen hergestellt sind. Von allen diesen Verdünnungen kommen je 5 Tropfen in ein mit 0,5 ccm 30%iger

[95] Ztschr. Urologie, **23**, 115 (1929).
[96] Acta med. scandinav., Suppl.-Bd. **16**, 682 (1926).
[97] Archivos Cardiol, **11**, 68 (1930).

Kochsalzlösung beschicktes Röhrchen. Man stellt nun die Röhrchen 10 Minuten in ein Wasserbad von 55 bis 65°, wartet nach dem Herausnehmen noch weitere 10 Minuten und sieht nach, in welchem Röhrchen Gerinnung eingetreten ist. Die entsprechenden Fibrinogenwerte für die Gläschen von 1 bis 21 120 - - 130 140 — — 320 mg %. Sollte statt einer gleichmäßigen Trübung eine Schleierbildung eingetreten sein, so wird der Versuch mit 0,06 ccm Ammonoxalatlösung wiederholt.

Auf das Auftreten des sogenannten Eiweißfehlers bei der kolorimetrischen Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration haben R. Griffon und Haudiquert[98] eine quantitative Eiweißbestimmung gegründet. Bei Gegenwart von Eiweiß ändert sich die Farbnuance eines mit Indikator versetzten Puffergemisches, wodurch eine Änderung des p_H-Wertes vorgetäuscht wird. Die Verfasser konnten nun zeigen, daß die Größe dieses Fehlers in bestimmter Beziehung zum Eiweißgehalt der Lösung steht. Zur Eiweißbestimmung nach dieser Methode werden zwei Eprouvetten verwendet, die bei 60 ccm eine Marke tragen. In die eine kommen 5 ccm einer 0,02%igen Lösung von Orange IV und 1,2 ccm n/10-Salzsäure, der Rest wird mit destilliertem Wasser ergänzt. Das p_H dieser Lösung beträgt 2,7. In die zweite Eprouvette kommen 1 ccm der 1 : 10 verdünnten Eiweißlösung und 55 ccm Wasser. Nun läßt man tropfenweise n/10-Salzsäure zufließen und ergänzt mit Wasser, bis derselbe Farbton erreicht ist. Die Differenz der in beiden Fällen verwendeten Salzsäuremenge gibt die Farbstoffmenge an, die durch die Eiweißgegenwart der Säureeinwirkung entzogen wurde. Die Beziehung zwischen Eiweiß und verbrauchter Salzsäure ist für Hühnereiweiß keine Gerade, sondern eine Parabel. Die Reaktion kann sowohl mit genuinem als auch mit gekochtem Eiweiß ausgeführt werden. Eine ähnliche Methode zur einfachen annähernden Bestimmung von Serumeiweiß beschreiben E. H. Fishberg und B. T. Doblin[99]. 0,5 ccm Serum und 0,5 ccm Wasser werden gemischt und mit 0,25 ccm n/10-Salzsäure und 2 Tropfen Methylrotlösung versetzt. Die sofort auftretende Färbung ist eine Funktion der Eiweißkonzentration. Bei einem Gehalt von mehr als

[98] C. r. soc. biol., **97**, 311 (1927).

[99] Proc. Soc. exper. Biol. and Med., **28**, 205 (1930).

6% Eiweiß ist die Farbe der Lösung gelb, bei 5% gelborange, bei 4% rosaorange, bei 3% rosa und bei weniger als 3% rot. Bei Vergleich mit einer Acetatpufferreihe soll die Genauigkeit auf 0,4 bis 0,5% gebracht werden können. In einer späteren Mitteilung berichten die Verfasser[100] über eine Modifikation dieser Methode. Sie bestimmten den Eiweißgehalt einer Lösung durch elektrometrische Messung der Verschiebung des p_H einer Säure nach Eiweißzusatz. H. NOGUCHI[101] stellt Veränderungen im Eiweißgehalt von Liquor mittels der Ausflockung der Lipoide fest und stellt quantitative Untersuchungen in Aussicht. E. GOSTER und F. GRENDEL[102] bestimmen Albumin und Globulin in 0,1 ccm Serum auf physikalischem Wege aus der „Ausbreitungszahl", das ist die Anzahl von Quadratmetern, welche ein Milligramm Substanz unter konstanten Bedingungen bedeckt.

[100] Journ. lab. and clin. med., **16**, 1107 (1931).
[101] Journ. Amer. med. assoc., **76**, 632 (1921).
[102] Biochem. Ztschr., **192**, 431 (1928).

Bücherschau.

Trattato di chimica analitica qualitativa. Von Prof. Pietro Falciola. Volume primo. Soc. an. istituto editoriale scientifico, Milano, 1929. XIX und 512 Seiten.

In den letzten Jahren hat sich in der analytischen Chemie eine große Zahl von Reagenzien, besonders organische Substanzen, eingebürgert. Bis 1929 fehlte eine übersichtliche Zusammenstellung diesbezüglicher neueren Arbeiten, so daß man sich über die Möglichkeiten, die die neuen Methoden bieten, durch mühevolles Suchen in der Originalliteratur orientieren mußte. Diesen sehr fühlbaren Mangel in der analytischen Literatur beseitigt das Werk des ehemaligen Professors an der königl. Ingenieur-Schule in Neapel wenigstens für das Gebiet der qualitativen Analyse so vollständig, daß weitere Wünsche vorderhand nicht mehr offen bleiben. Es ist übrigens bezeichnend, daß das Werk im Rahmen einer Sammlung von wissenschaftlichen Kompendien („Biblioteca scientifica italiana") erschien, die den ausgesprochenen Zweck verfolgt, die italienischen Leser von den Werken des Auslandes unabhängig zu machen: „segnacolo del rinnovato spirito di italianità...", wie es im Vorwort heißt („als ein Zeichen des erneuerten Geistes der Italianität..."). Leider dürfte das Buch aus sprachlichen Gründen den meisten deutschen Lesern kaum zugänglich sein, eine Übersetzung wäre dringend erwünscht. Denn das sei gleich vorweggenommen und besonders betont: Das Buch ist nach der Meinung des Ref. ein Standardwerk, das auch auf dem so übersättigten deutschen Büchermarkte eine auffallende Erscheinung wäre.

Zur Begründung dieses überschwänglich scheinenden Urteils sei kurz der Inhalt des vorliegenden 1. Bandes angegeben. Nach einer historischen Einleitung, die weit mehr bietet als eine bloße Aufzählung von Namen (10 Seiten!), werden, wie üblich, die für die anlytische Chemie so wichtigen physikalisch-chemischen Gesetze der chemischen Massenwirkung, der elektrolytischen Dissoziation usw. in einer didaktisch außerordentlich glücklichen Art auseinandergesetzt. Es folgt die Schilderung der Durchführung von trockenen Proben, leider ohne Angabe des Verhaltens der einzelnen Elemente im besonderen, was offenbar erst im 2. Bd. zu finden sein wird; dann die analytischen Operationen (Lösen, Dekantieren, Filtrieren usw.). Sehr ausführlich werden die Eigenschaften und die Reinheitsprüfungen der gewöhnlicheren Reagenzien besprochen. (Angaben über Reinheitsprüfungen werden häufig benötigt und sind doch in unseren deutschen Lehrbüchern nirgends zu finden.) Den größten Teil des Buches nehmen die Reaktionen der Metalle ein, die Gruppierung ist die übliche nach dem H_2S-Gang. Die Fülle des Materials, das hier verarbeitet ist, ist er-

stammlich. Man findet z. B. beim Cu nicht weniger als 27, beim Zn 11 Reaktionen mit organischen Reagenzien angegeben. Soweit sich Ref. überzeugen konnte, sind die Angaben durchaus verläßlich, zum mindesten ist überall auf die Originalarbeit verwiesen. Der Zusatz „überall" will viel besagen: Auch so altbekannte Reaktionen wie etwa die Entwicklung von AsH_3 aus As-Verbindungen u. dgl. sind durch Literaturstellen belegt, die Zitate reichen bis zu Anfang des 19. Jahrh. zurück. — Die wichtigsten Tüpfelreaktionen und Reaktionen, die für die Mikroanalyse Bedeutung haben, werden angegeben. Sehr erwünscht sind endlich zwei Einrichtungen in diesem Teile des Werkes, die man auch gewöhnlich in unseren Lehrbüchern nicht findet: Zunächst Tabellen über die Empfindlichkeit der Reaktionen. Für den Kundigen sind diese Tabellen ungemein lehrreich und auch für den weniger Kundigen bilden sie eine sehr brauchbare Übersicht über die Reaktionen des betreffenden Elementes. Ferner ausführliche Löslichkeitstabellen, die nicht nur für analytische Arbeiten, sondern auch für viele andere Zwecke sehr praktisch sind und das lästige Nachschlagen in dicken Handbüchern zum größten Teil ersparen werden.

Trotz der Überfülle des Gebotenen zeichnet sich das Werk durch mustergültige Übersichtlichkeit aus. Druck in dreierlei Größe!). Es ist wirklich erreicht worden, daß das Buch für alle geeignet ist: Für den „studioso", d. h. für den, der sich die Kunst der analytischen Chemie erst aneignen will, für den „studente", der schon etwas davon versteht, und endlich für den „ricercatore", den Forscher. Besonders für den Anfänger sind einige Dinge didaktisch ganz ausgezeichnet herausgearbeitet: Die Erklärung von starken und schwachen Ionen, Komplexionen, die Oxydationswirkung der Halogene und des Permanganates usw., um aus der Fülle nur einiges herauszugreifen.

Einige wenige ganz kleine Versehen (oder Druckfehler?) sollen hier nicht angekreidet werden, das würde den durchaus günstigen Eindruck, den diese Besprechung hervorrufen will, nur verwischen.

Auf das Erscheinen des 2. Bandes, der die Reaktionen der Anionen und den systematischen Gang der Analyse enthalten soll, kann man gespannt sein.

E. Neusser.

Pflanzenchemie und Pflanzenverwandtschaft. Von Dr. Hans Molisch, emer. o. ö. Professor und Direktor des pflanzenphysiologischen Institutes an der Universität Wien. Mit 12 Abbildungen im Text. Verlag von Gustav Fischer, Jena 1933. 118 Seiten. Preis broschiert 5 RM, gebunden 6 RM.

Die Zusammenhänge zwischen der chemischen Zusammensetzung einer Pflanze und ihrer systematischen Stellung sind schon um die Mitte des vorigen Jahrhunderts von einigen Botanikern klar erkannt worden und dürften heute wohl von keinem Systematiker mehr geleugnet werden. Auf die Bedeutung der Phytochemie für die Verwandtschaftsforschung ist gerade in den letzten Jahren von verschiedenen Autoren, so auch vom Referenten, in kleineren Abhandlungen nachdrücklich hingewiesen worden. Leider fehlte bislang in der Literatur ein umfassendes Werk, das uns eine eingehende Übersicht über all das zu geben vermag, was wir heute über die Beziehungen zwischen Pflanzenchemie und Pflanzenverwandtschaft wissen. Um diese Lücke auszufüllen, hat uns Molisch

das vorliegende Bändchen beschert, wofür Phytochemiker und Systematiker ihm Dank wissen werden.

Nach einer kurzen Einleitung, in welcher unter anderem die Ansichten verschiedener Autoren über die Bedeutung der Phytochemie für die Systematik vorgebracht werden, berichtet der Autor zunächst auf drei Seiten über das Vorkommen bestimmter Stoffe bei verwandten Pflanzen. In einem zweiten Kapitel, das zirka 64 Seiten umfaßt, wird der Zusammenhang zwischen Chemie und Verwandtschaft an zahlreichen Beispielen begründet. In einem dritten Kapitel werden die serologischen Verwandtschaftsreaktionen erklärt und ihre Bedeutung für die Verwandtschaftsforschung diskutiert. Im vierten Kapitel wird darauf hingewiesen, daß Transplantation nur bei nahe verwandten Arten möglich ist, daß mit anderen Worten Transplantationen nur bei Arten gelingen, die einen gleichen oder ähnlichen Chemismus haben. Anschließend wird in einem besonderen Kapitel über die chemischen Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Pflanzen berichtet. Im siebenten Kapitel werden die Beziehungen zwischen Verwandtschaft und Individualstoffen diskutiert. Im achten und letzten Kapitel wird über Stoff und Form und über Pflanzenhormone berichtet.

Es ist nicht so recht einzusehen, warum der Autor in einem besonderen Kapitel die chemische Verschiedenheit der Geschlechter diskutiert, steht doch diese Frage in keinem unmittelbaren Zusammenhang mit dem Problem der Pflanzenverwandtschaft. Dieses Kapitel sollte zweckmäßig ersetzt werden durch eine Besprechung biologischer Reaktionen, d. h. tierexperimenteller Untersuchungen, denen mindestens die gleiche Bedeutung für die Verwandtschaftsforschung zukommt wie Transplantationsversuchen, denn Arten mit gleichen oder ähnlichen Inhaltsstoffen werden im Tierkörper auch stets die gleichen, bezw. ähnliche Reaktionen auslösen, ich erinnere nur an die Bestätigung der nahen Verwandtschaft zwischen Erysimum, Cheiranthus und Sisymbrium durch den Nachweis herzwirksamer Substanzen vom Typus der Digitalisgifte in den genannten Gattungen an Fröschen. Mit diesen kritischen Betrachtungen soll aber der Wert des vorliegenden Werkes nicht geschmälert werden, das wohlfeile Buch sei jedem Phytochemiker und Systematiker warm empfohlen. R. Jaretzky.

Mikrokemi. En översikt över den organiska mikroanalysens metoder. Fyra föredrag. (Mikrochemie. Eine Übersicht über die Methoden der organischen Mikroanalyse. Vier Vorträge.) Av Herbert Alber. Stockholm. P. A. Norstedt & Söners Förlag.

Wie schon der Titel der kleinen Broschüre sagt, war der Hauptzweck der Vorträge, einen größeren Kreis von Chemikern in Schweden mit den Grundzügen der Mikrochemie vertraut zu machen und den Teilnehmern am folgenden Kurs (vgl. Mikrochemie, **XII**, 280, 403 [1932/33], unter Varia) einen Überblick über das von ihnen praktisch zu bearbeitende Gebiet zu geben. Es handelt sich also um eine sehr allgemein gehaltene Übersicht von Methoden, die sich auch in der praktischen Arbeit schon als erfolgreich behauptet haben, wobei natürlich auf die Forschungsarbeiten des Institutes Emich in Graz besonders eingegangen wurde. Man kann fast sagen, daß es sich um eine kleine Übersicht über die Lebensarbeit von Emich handelt. Der Wunsch, diese Vorträge in schwedischer

Sprache herauskommen zu lassen, wurde durch das Entgegenkommen des Verlages P. A. Norstedt & Söners Förlag (Svenska Bokförlaget) ermöglicht.

Trotz des ziemlich hohen Preises ist dem Verfasser als auch dem Verlag herzlich dafür zu danken, denn das kleine Heft ist sehr lesenswert; es kann allen empfohlen werden, die sich noch nicht mit den mikroanalytischen Methoden vertraut gemacht haben, und vielleicht noch ein wenig an die Leistungsfähigkeit der Mikromethoden zweifeln. Um kurz einen Begriff von der überzeugenden Kraft der Broschüre zu vermitteln, seien einige Stellen wiedergegeben.

Aus einer Statistik. S. 13, geht hervor, in welchem Grad die Mikrochemie im Laufe der letzten 40 Jahre sich ausgebreitet hat. Es sind durchschnittlich 1890 bis 1900: 8, 1925 und 1926: 270, 1931: 600 mikroanalytische Arbeiten jährlich erschienen. Gewiß ist die Mikrochemie „modern" geworden.

Der Makroanalytiker wird fragen: Genügt eine Einwaage von wenigen Milligramm, um eine zuverlässige Durchschnittsanalyse einer größeren Menge Stoffmischung zu bekommen? Diese Frage wird auf S. 42 mit ja beantwortet durch einen Hinweis an die theoretischen und experimentellen Überlegungen von B. Baule und A. Benedetti-Pichler.

Die erreichbare Genauigkeit der quantitativen Mikroanalyse wird beispielsweise durch die Arbeit von H. Thurnwald und Benedetti-Pichler erläutert: mit einer Einwaage von 5 mg wurden 8 Ionen in dem Mineral Kolbeckit bestimmt, die Analysensumme betrug 100.1%. Größere Genauigkeit kann man wohl nicht gut von einer Makroanalyse erwarten.

Die Mikroanalysen sind mit einer großen Ersparnis an Zeit verbunden: Die Trockendauer bei der Al-Bestimmung (Oxichinolin) ist bei der Makroanalyse 3 Stunden, bei dem Mikroverfahren nur 5 Minuten. Nach dem sehr einfachen, von F. Emich angegebenen „Stabverfahren" dauern die Bestimmungen von Ca, Ba, K, Ni, As, Ag, Al bezw. nur etwa 160, 130 und weniger als 100 Minuten.

Auch die sehr schöne und leistungsfähige qualitative Tüpfelmethode von F. Feigl wird in einem besonderen Abschnitt besprochen und mit einem typischen Beispiel erläutert. Es handelt sich um einen Lokalisierungsnachweis. Niessner hat mittels dieser Methode die lokalen Einlagerungen von FeO und Fe_2O_3 in met. Eisen, von met. Fe in Messing und Anwesenheit von FeO und Abwesenheit von Fe_2O_3 in einem Tintenstrich nachweisen können.

Übrigens bewegt sich der Verfasser auf den 77 Seiten durch alle Zweige der Mikroanalyse, aus denen die Beispiele stets mit viel Geschmack gewählt sind. Das Heft kann also mit seinen außerordentlich zahlreichen Literaturhinweisen als eine — allerdings kleine — doch sehr anregende Einführung in die Verwendung der mikrochemischen Methoden empfohlen werden.

S. Kühnel-Hagen, Kopenhagen.

Wörterbuch der Kolloidchemie. Von Alfred Kuhn. (179 Seiten, 47 Abb. und 37 Tabellen.) Verlag Th. Steinkopff. Dresden und Leipzig. Preis RM 8·—.

Das Buch bringt in handlicher Form, in alphabetischer Reihenfolge die wichtigsten Begriffe der Kolloidchemie und kolloidchemischen Technologie nebst einigen orientierenden Literaturangaben. Die Erläuterungen sind so gehalten, daß auch der dem Gebiete fernerstehende Leser leicht einen Überblick und eine Beantwortung seiner Fragen finden wird: F. Eirich.

VARIA.

Prof. Dr. F. Paneth, Königsberg, wurde von der American Academy of Arts and Sciences in Boston zum auswärtigen Ehrenmitglied gewählt.

Prof. Dr. L. van Itallie, Leiden, wurde von der Universität Paris zum Ehrendoktor ernannt.

Internationale Zusammenfassung der chemischen Dokumentation. Seit einigen Jahren gewinnen die durch die internationale Organisation der Dokumentation aufgeworfenen Fragen immer mehr an Bedeutung. Die Zahl der wissenschaftlichen und technischen Veröffentlichungen ist derart gewachsen, daß es immer schwieriger wird, dem Forscher einen Überblick über die wesentliche Fortschritte auf seinem Gebiete zur Verfügung zu stellen. Es gibt eine ganze Anzahl Stellen, die es sich zur ständigen Aufgabe gemacht haben, das wissenschaftlich-technische Schrifttum zu sichten, zu ordnen und seine Kenntnis zu verbreiten. Damit aber diese Stellen ihrer Aufgabe gewachsen bleiben können, scheint es gegenwärtig unerläßlich, ihre Tätigkeit auf internationaler Grundlage in Einklang zu bringen.

In dieser Hinsicht ist auf dem Gebiete der wissenschaftlichen und technischen Chemie ein Fortschritt erzielt worden durch die Schaffung des Internationalen Amtes für Chemie, das durch internationales Abkommen mit dem Sitz in Paris gegründet wurde und seine Tätigkeit im Jahre 1932 aufgenommen hat.

Sein erster Schritt war die Einberufung einer Sachverständigenkonferenz, an der Persönlichkeiten aus folgenden Ländern teilnahmen:

Belgien, Deutschland, England, Frankreich, Holland, Italien, Schweiz und Spanien.

Diese Konferenz führte zur Aufstellung bestimmter Richtlinien, in denen die drei Hauptaufgaben des Amtes festgelegt wurden:

1. Das bereits bestehende Schrifttum, soweit es in den verschiedenen Nachweisstellen gesammelt ist, allen Interessenten zugänglich zu machen;

2. das gegenwärtig und zukünftig veröffentlichte chemische Schrifttum in solche Bahnen zu leiten, die seine Erfassung, seine Aufbewahrung und seine Verbreitung durch die besten Verfahren gewährleistet;

3. eine Brücke zu schlagen zwischen der chemischen Dokumentation und ihren Nachbargebieten im Rahmen der umfassenden Dokumentation.

Die planmäßige Durchführung dieser Aufgabe wird eine immer leistungsfähigere und rationellere Dokumentation auf chemischem Gebiet herbeiführen,

die sich den Bedürfnissen der geistigen Arbeiter aller Länder immer besser anpassen wird.

Zuschriften zu richten an: Office International de Chimie, 49, Rue de Mathurins, Paris VIII^{e}, von dem obiger Aufruf versendet wurde.

Literaturnachweis mikrochemischer Arbeiten. Von dem bereits wiederholt angekündigten „Literaturnachweis mikrochemischer Arbeiten", der die bisherigen Einzelreferate ersetzen soll, ist der erste Teil als Beiheft der Schlußlieferung des Bandes XIII der MIKROCHEMIE ausgegeben worden. Die Schriftleitung behält sich vor, auch in Zukunft auf besonders wichtige Arbeiten außerdem noch durch ausführliche Referate hinzuweisen.

Monographien aus dem Gesamtgebiete der Mikrochemie.

In Vorbereitung befinden sich:

Stufenphotometrische Trinkwasseranalyse
von **Dr. Carl Urbach**, *Prag;*

Mikromethoden zur p_H- und Leitfähigkeitsmessung
von **Professor Dr. Franz Fuhrmann**, *Vorstand des biochemischen Institutes der Technischen Hochschule in Graz;*

Stufenphotometrische Trübungsmessungen
von **Dr. Carl Urbach**, *Prag;*

Die Mikrogasanalyse und ihre Anwendung
von **Dr. Heinrich Schwarz**, *Wien.*

Emil Haim & Co.
Wien, I., Maria-Theresien-Straße 10

HELVETICA CHIMICA ACTA

Die HELVETICA CHIMICA ACTA wurden 1918 gegründet; sie veröffentlichen die Ergebnisse der in der Schweiz ausgeführten wissenschaftlichen chemischen Forschungsarbeiten in einer der drei Landessprachen. Sie sind Eigentum der

SCHWEIZERISCHEN CHEMISCHEN GESELLSCHAFT

und erscheinen jährlich in 6–8 Heften, die den Mitgliedern kostenlos zugestellt werden.

Der JAHRESBEITRAG für ordentliche Mitglieder beträgt . . . . Fr. 20.–
die im Ausland wohnenden Mitglieder bezahlen . . . . . Fr. 23.–

ANMELDUNGEN zur Mitgliedschaft vermittelt Herr DR. MAX JETZER, Sekretär der Gesellschaft, Margarethenstraße 75, Basel.

Alle ZAHLUNGEN und BESTELLUNGEN sind zu richten an den Schatzmeister der Gesellschaft, Herrn DR. G. ENGI, Vizepräsident und Delegierter des Verwaltungsrates der Gesellschaft für chemische Industrie in Basel, (Postscheckkonto V. 3973)

Für Nichtmitglieder beträgt der Abonnementspreis jährlich Fr. 30.– plus Porto (Ausland Fr. 3.–). Bestellungen sind an die Verlagsbuchhandlung Georg & Co. in Basel zu richten.

Verleger: AKADEMISCHE VERLAGSGESELLSCHAFT m.b.H., Leipzig / DAVID NUTT, London
G. E. STECHERT & Co., New York / FÉLIX ALCAN, Paris / NICOLA ZANICHELLI, Bologna
RUIZ HERMANOS, Madrid / F. MACHADO & C.ia, Porto / THE MARUZEN COMPANY, Tokyo

1933 **27. JAHR**

"SCIENTIA„

Internationale Zeitschrift für wissenschaftliche Synthese
Erscheint monatlich (jedes Heft 100 bis 120 Seiten)

Schriftleiter: **F. BOTTAZZI - G. BRUNI - F. ENRIQUES**
Generalsekretär: **Dokt. Paolo Bonetti.**

IST DIE EINZIGE ZEITSCHRIFT mit einem wahrhaft internationalen Mitarbeiterstab

IST DIE EINZIGE ZEITSCHRIFT die in der ganzen Welt verbreitet ist;

IST DIE EINZIGE ZEITSCHRIFT der Synthese und der Zusammenfassung der Kenntnisse welche die Hauptfragen sämtlicher Wissenschaften: der Mathematik, Astronomie, Geologie, Physik, Chemie, Biologie, Psychologie, Ethnologie, Linguistik, behandelt; der Geschichte der Wissenschaften; der Wissenschaftlichen Philosophie;

IST DIE EINZIGE ZEITSCHRIFT die mittels Nachfragen unter den berühmtesten Gelehrten und Schriftstellern sämtlicher Länder *(über die philosophischen Grundsätze der verschiedenen Wissenschaften; über die grundlegendsten astronomischen und physischen Fragen; über den Beitrag, den die verschiedenen Länder der Entwicklung der verschiedenen Hauptteile der Wissenschaft gegeben haben; über die bedeutendsten biologischen Fragen usw. usw.)* alle großen Probleme, die das lehrbegierige und geistige Milieu der ganzen Welt aufwühlt, studiert und die zur selben Zeit den ersten Versuch der internationalen Organisation der philosophischen und wissenschaftlichen Bewegung macht;

IST DIE EINZIGE ZEITSCHRIFT die sich rühmen kann, unter ihren Mitarbeitern die berühmtesten Gelehrten in der ganzen Welt zu besitzen.

Die Artikel werden in der Sprache ihrer Verfasser veröffentlicht, und **in jedem Heft befindet sich ein Supplement, das die französische Übersetzung von allen nichtfranzösischen Artikeln enthält. Die Zeitschrift ist also auch denjenigen, die nur die französische Sprache kennen, vollständig zugänglich,** *(Verlangen Sie vom Generalsekretär der "Scientia„ in Mailand ein Probeheft unentgeltlich, unter Einsendung von 50 Pfg. in Briefmarken zur Deckung der Versandspesen.)*

ABONNEMENTSPREIS: Deutschland M 35·—
Besonders niedrige Preise für Abonnements auf mehrere Jahre.
Auskünfte bei der **"SCIENTIA„, Via A. De Togni, 12 — Milano 116 (Italien)**

THE CHEMICAL SOCIETY.

The Chemical Society, founded in 1841 and incorporated by Royal Charter in 1848, aims at encouraging the development of the science of chemistry in all its branches and providing a regular and complete record of advances in chemical knowledge.

Fellowship of the Society is open to men and women who desire to be associated with the development of chemical science and to keep in direct touch with the advances of pure chemistry in this and other countries.

MEETINGS

The Society meets at Burlington House generally twice a month from October to June, for the presentation and discussion of papers, lectures and general discussions. Lectures and other meetings are also held outside London, and facilities exist by which Fellows may read papers at meetings of Local Sections of the Society of Chemical Industry.

PUBLICATIONS

Journal of the Chemical Society (issued monthly), contains original memoirs and special lectures delivered before the Society. (Price to the Public, £3 4s.)

British Chemical Abstracts "A" (Pure Chemistry), issued monthly, comprises comprehensive abstracts of recent British and foreign papers on organic, inorganic, physical, agricultural, mineralogical, physiological, and analytical chemistry. (Price to the Public, £3 14s.)

Annual Reports on the Progress of Chemistry, comprises a compact and valuable record of the advances in chemistry each year. (Price to the Public, 11s.)

LIBRARY

The Library contains over 36,500 volumes and is open for borrowing and reference purposes each weekday from 10 a.m. to 9 p.m., except on Saturday, when it closes at 5 p.m.

RESEARCH FUND

The Research Fund was established for the purpose of assisting investigators by defraying the cost of expensive materials. Grants are made by the Council in December, and the sum available each year is about £700. In the administration of this fund, applications from Fellows receive prior consideration.

PRIVILEGES OF FELLOWSHIP

(a) To receive the Journal of the Chemical Society.
(b) To receive British Chemical Abstracts "A" (Pure Chemistry).
(c) To purchase the Annual Reports on the Progress of Chemistry at 5s. 6d.
(d) To attend the Ordinary Scientific Meetings in London and elsewhere and to introduce two visitors thereto.
(e) To attend the Lectures delivered before the Society.
(f) To consult and borrow books in the Library.
(g) To apply for grants from the Research Fund.
(h) To purchase the publications of the Society of Chemical Industry and the American Chemical Society at reduced prices.

ANNUAL SUBSCRIPTION

The Annual Subscription to the Society is £3, but Fellows who, at the time of election, are under the age of 25, at present have the option of paying £1 10s. (one-half the Annual Subscription) and receiving until the end of the year in which they reach that age the Journal and the Annual Reports, but no other publications of the Society.

Forms of application for Fellowship can be obtained from the Assistant Secretary, The Chemical Society, Burlington House, Piccadilly, London, W.1.